



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

Trabajo de Tesis de
Maestría en Tecnología e Higiene de los Alimentos

**“Empleo de aceites esenciales para mejorar la
conservación de tomate fresco cortado”**

Ing. Gisell Pesantez Aguilar

Director: Dra. Analía Concellón

Co-director: Dra. María Laura Lemoine

Lugar de realización:

CIDCA (Centro de investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos).
Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires,
Argentina.

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Magíster en Tecnología e Higiene de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) bajo la dirección de la Dra. Analía Concellón y Co-dirección de la Dra. María Laura Lemoine.

La Plata 2014

*“Aerodinámicamente el cuerpo de una abeja no está diseñado para volar,
Lo bueno es que la abeja no lo sabe”
-anónimo-*

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora Dra. Analía Concellón por los conocimientos y consejos compartidos, por la dedicación, responsabilidad y por estar pendiente en el desarrollo y culminación de este trabajo. A mi Co-directora Dra. María Laura Lemoine por las enseñanzas recibidas, compañía y el apoyo que me brindó.

Al Dr. Ariel Vicente, del cual admiro su cariño hacia la docencia, por toda la ayuda brindada cuando más la necesité, por el tiempo que dedicó aportando sus conocimientos y consejos, por alentarme a tener confianza en mí para terminar la última etapa de la maestría.

A la Dra. Alicia Chaves por siempre estar dispuesta a contestar mis dudas, por sus valiosos conocimientos transmitidos.

A los integrantes del grupo Vegetales:

A María José Zaro quien me brindó ayuda en jornadas largas de trabajo, por compartir sus conocimientos y experiencias siempre con gran calidez y generosidad.

A Sonia Viña, Luis Rodoni, Facundo Massolo, Joaquín Hasperue, Cristian Ortiz, Cecilia Doporto, Cecilia Dini, por las horas compartidas, su amabilidad y su ayuda en todo momento.

A las personas que trabajan en el grupo de hongos, Mariana, Raúl, pero especialmente a la Dra. Ángela León por abrirme las puertas de su laboratorio, por la invaluable ayuda que me brindó siempre con buen humor y generosidad, por confiar en mí y ofrecerme retos para mi desarrollo profesional. También a Gabriela Diosma quien colaboró generosamente en los análisis microbiológicos.

A mis compañeros de maestría, a Sara y Caro por todos los momentos compartidos, jornadas de estudio, alegrías y tristezas, por hacer más amena esta etapa en Argentina.

A Francisco por su apoyo incondicional, por siempre tener una palabra de aliento para seguir adelante, por la compañía, los lindos momentos compartidos durante estos años, y por cuidarme siempre.

A Marina Pierucci mi compañera de habitación por las risas, los mates, y las conversaciones nocturnas, por siempre estar pendiente de mi y por hacer mucho más agradable mi estadía en La Plata.

A María José Andrade, por compartir su experiencia, sus consejos, y su amistad.

A mis padres por su constante apoyo, su cariño, preocupación, por sus valiosos consejos, y por enseñarme todo lo que soy. A mi hermano Santiago por los buenos momentos compartidos en Buenos Aires, a mi hermana Priscila por apoyarme en todas mis decisiones, por su generosidad, por las largas conversaciones de "chat", por estar pendiente de mi.

A las autoridades del CIDCA quienes colaboraron en la realización de la maestría.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	3
1.1 TOMATE.....	4
1.1.1 <i>Morfología</i>	4
1.1.2 <i>Varietades</i>	5
1.1.3 <i>Valor nutricional</i>	6
1.1.4 <i>Madurez del fruto</i>	8
1.1.5 <i>Producción y consumo</i>	11
1.2 VEGETALES MINIMAMENTE PROCESADOS FRESCOS	14
1.2.1 <i>Clasificación</i>	14
1.2.2 <i>Proceso de elaboración de productos mínimamente procesados en fresco.</i>	15
1.2.3 <i>Cambios en procesos fisiológicos y metabólicos</i>	18
1.2.4 <i>Tecnologías poscosecha en productos mínimamente procesados</i>	19
1.2.4.1 <i>Refrigeración</i>	19
1.2.4.2 <i>Atmósfera modificada</i>	19
1.2.4.3 <i>Otras tecnologías</i>	20
1.2.4.3.1 <i>Agregado de ciertos sustratos al agua de lavado</i>	20
1.2.4.3.2 <i>Tratamientos con luz ultravioleta C (UV-C)</i>	20
1.2.4.3.3 <i>Aceites esenciales</i>	20
1.3 ACEITES ESENCIALES	22
1.3.1 <i>Generalidades</i>	22
1.3.2 <i>Clasificación</i>	22
1.3.3 <i>Características físicas de los aceites esenciales</i>	23
1.3.4 <i>Características químicas de los aceites esenciales</i>	24
1.3.4.1 <i>Terpenoides</i>	24
1.3.4.2 <i>Fenilpropanos</i>	27
1.3.5 <i>Usos de los aceites esenciales en alimentos</i>	28
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	32
2.1.1 <i>Objetivos específicos</i>	32
3 MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 EVALUACION SENSORIAL	34
3.1.1 <i>Selección del estado de madurez</i>	34
3.1.2 <i>Selección de bandejas de presentación</i>	35
3.2 TRATAMIENTO CON ACEITES ESENCIALES	36
3.2.1 <i>Material vegetal</i>	36
3.2.2 <i>Selección del tipo y concentración de aceite esencial</i>	37
3.2.3 <i>Envasado y almacenamiento</i>	37
3.3 EFECTO DE LA ESENCIA SELECCIONADA SOBRE LA CALIDAD DE LAS RODAJAS DE TOMATE	37
3.4 PARAMETROS EVALUADOS	38
3.4.1 <i>Índice de deterioro</i>	38
3.4.2 <i>Pérdida de peso</i>	38
3.4.3 <i>Actividad respiratoria</i>	39
3.4.4 <i>Color</i>	39
3.4.5 <i>Acidez, pH y sólidos solubles</i>	39
3.4.6 <i>Textura</i>	40
3.4.7 <i>Contenido de Fenoles Totales</i>	40
3.4.8 <i>Capacidad antioxidante empleando ABTS^{•+}</i>	41
3.4.9 <i>Capacidad antioxidante empleando DPPH[•]</i>	41
3.4.10 <i>Determinación de Acido Ascórbico</i>	41
3.4.11 <i>Determinación de compuestos volátiles por cromatografía gaseosa</i>	42

3.4.12	<i>Determinación de O₂ y CO₂ por cromatografía gaseosa</i>	43
3.4.13	<i>Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, hongos y levaduras</i>	43
3.4.14	<i>Identificación de los microorganismos aislados de rodajas de tomate</i>	44
3.4.14.1	Hongo filamentoso	44
3.4.14.2	Levaduras	44
3.4.15	<i>Efecto antifúngico del aceite esencial de romero frente a microorganismos aislados</i>	45
3.4.15.1	Concentración de AE de romero constante (30 uL)	45
3.4.15.2	Concentración de AE de romero variable	46
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
4	RESULTADOS	48
4.1	SELECCIÓN DEL ESTADO DE MADUREZ.....	49
4.2	SELECCIÓN DE BANDEJAS PARA PRESENTACIÓN DE PRODUCTO	51
4.3	SELECCIÓN DE CONCENTRACIÓN Y ACEITE ESENCIAL.....	52
4.4	EMPLEO DE ACEITE ESENCIAL EN TOMATES FRESCOS CORTADOS ALMACENADOS A 5 °C	55
4.4.1	<i>Firmeza</i>	56
4.4.2	<i>Pérdida de peso</i>	57
4.4.3	<i>Actividad respiratoria</i>	58
4.4.4	<i>Color</i>	59
4.4.5	<i>Acidez</i>	61
4.4.6	<i>Contenido de sólidos solubles</i>	62
4.4.7	<i>Capacidad antioxidante</i>	63
4.4.7.1	Empleo de radical estable DPPH•	64
4.4.7.2	Empleo de radical estable ABTS ^{•+}	65
4.4.8	<i>Contenido de fenoles totales</i>	66
4.4.9	<i>Determinación de Acido Ascórbico</i>	68
4.4.10	<i>Determinación de CO₂ y O₂ en atmósfera</i>	69
4.4.11	<i>Identificación de compuestos volátiles</i>	71
4.4.11.1	Compuestos volátiles en el aceite esencial de romero.....	71
4.4.11.2	Compuestos volátiles presentes en la atmósfera del envase y en el tejido de las rodajas de tomate	73
4.4.12	<i>Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, hongos y levaduras</i>	76
4.4.13	<i>Inhibición in vitro con cepas aisladas de rodajas de tomate frente al aceite esencial de romero</i>	77
4.4.14	<i>Identificación morfológica de los microorganismos</i>	78
4.4.14.1	Hongo filamentoso	78
4.4.14.2	Levaduras	81
4.4.15	<i>Estudio de la inhibición microbiana del aceite esencial de romero empleado en forma de vapor</i>	82
4.4.16	<i>Diferentes concentraciones de microorganismos frente a una misma concentración de aceite esencial de romero (30 uL)</i>	83
4.4.16.1	Efecto sobre <i>A. fumigatus</i>	83
4.4.16.2	Efecto sobre <i>C. guilliermondii</i>	84
4.4.16.3	Efecto sobre <i>Kloeckera spp</i>	85
4.4.17	<i>Diferentes volúmenes de aceite esencial de romero frente a una misma concentración de microorganismo</i>	87
4.4.17.1	Efecto sobre <i>A. fumigatus</i>	87
4.4.17.2	Efecto sobre <i>C. guilliermondii</i>	88
4.4.17.3	Efecto sobre <i>Kloeckera spp</i>	88
5	CONCLUSIONES	90
6	BIBLIOGRAFIA	93

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas:

Tabla 1-1: Composición de frutos de tomate (USDA, 2008).	7
Tabla 1-2: Producción, superficie y rendimiento de los principales países productores en el mundo (FAO, 2007)	11
Tabla 1-3: Clasificación de terpenoides y algunos ejemplos de los mismos.	25
Tabla 1-4: Clasificación de monoterpenos según su estructura y ejemplos de los mismos.	26
Tabla 4-1: Compuestos mayoritarios detectados por CG en el aceite esencial de romero, tiempos de retención (TR) y cantidad relativa (%).	72
Tabla 4-2: Diámetro de crecimiento (mm) del hongo filamentoso cultivado a 5, 25 y 37°C en distintos medios por 24, 48, 72 h y 7 días.	79
Tabla 4-3: Resultados de asimilación de carbohidratos para levadura 1 y levadura 2.	82

Figuras:

Figura 1-1: Vista externa, corte longitudinal y transversal de tomate.....	5
Figura 1-2: Principales variedades de tomate	6
Figura 1-3: Vista exterior e interior de los estados de madurez del tomate: a) verde, b) verde maduro, c) pintón, d) rosado, e) rojo pálido y f) rojo. (Báez y Contreras, 2013)	9
Figura 1-4: Calidad organoléptica de un fruto en función de su madurez. (FAO, 2007)	9
Figura 1-5: Principales países industrializadores de tomate (Instituto Desarrollo Rural- Mendoza, 2013).	12
Figura 1-6: Diagrama de flujo de procesamiento mínimo de vegetales (Parzanese. 2012).	16
Figura 3-1: Modelo de evaluación sensorial por atributos.....	34
Figura 3-2: Modelo de evaluación sensorial de ordenamiento por preferencia.....	35
Figura 4-1: Muestras presentadas a los panelistas en una evaluación sensorial por atributos, se detallan el estado de madurez y el código de las muestras con tres números aleatorios	49
Figura 4-2: Valores promedios (escala 1 a 9) obtenidos por los atributos evaluados Color y Aceptabilidad general en rodajas de tomate de distintos estados de madurez (Pintón, Rosado, Rojo pálido y Rojo) otorgado por Mujeres (A) ($LSD_{Color}=0,88$ y $LSD_{Acept.}=0,89$) y Hombres (B) ($LSD_{Color}=0,95$ y $LSD_{Acept.}=0,95$) en un ensayo sensorial de aceptabilidad por atributos. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia 0,05. Minúsculas: estadística de Atributo color, Mayúsculas: estadística de Atributo Aceptabilidad General.....	50
Figura 4-3: Muestras presentadas a los panelistas en una evaluación sensorial de ordenamiento por preferencia, se detallan el material y la forma de las bandejas y el código de las muestras compuesto por tres números aleatorios.....	51

Figura 4-4: Puntaje según preferencia de las distintas bandejas y formas de presentación de las rodajas de tomate. 1= Gusta menos, 4= Gusta más. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia 0,05. (LSD= 0,95).	52
Figura 4-5: Apariencia de rodajas de tomate con levaduras (A) , y desarrollo fúngico (B) luego de 16 días.....	53
Figura 4-6: Efecto de los aceites esenciales de romero y laurel con diferentes concentraciones sobre el deterioro de rodajas de tomate almacenadas a 5 °C y evaluadas durante 11 y 16 días. Nivel 1= bueno, 2= regular, 3= malo, 4= muy malo. Letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 0,79).	54
Figura 4-7: Apariencia de rodajas de tomate control y tratadas con aceites esenciales de romero y laurel (15, 30, 50, 100 uL) almacenados a 5 °C por 16 días.....	55
Figura 4-8: Apariencia de rodajas de tomate control y tratadas con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5 °C por 13 días.....	56
Figura 4-9: Índice de deterioro de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL durante el almacenamiento a 5 °C. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 0,34).	56
Figura 4-10: Firmeza en rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,064).	57
Figura 4-11: Pérdida de peso de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL, almacenados a 5 °C por 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,90).	58
Figura 4-12: Tasa respiratoria de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 8,43).	59
Figura 4-13: Representación del espacio de color según la escala CIE-Lab.	60
Figura 4-14: Variación de los parámetros de color: L* o luminosidad (A) y Hue o tonalidad (B) en rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5°C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD _{L*} =1,53 y LSD _{Hue} =3,46).	61
Figura 4-15: Acidez titulable porcentual de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,06).	62
Figura 4-16: Sólidos solubles de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,65).	63
Figura 4-17: Cinética de la reacción de consumo entre el reactivo DPPH [•] por parte de un extracto de rodajas de tomate	64
Figura 4-18: Poder antioxidante (EC ₅₀ ⁻¹), medido con el radical DPPH [•] , de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5 °C durante 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=7,74).	65
Figura 4-19: Poder antioxidante, medido con el radical ABTS ^{•+} , de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras	

distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,27).	66
Figura 4-20: Recta de calibración realizada con ácido clorogénico para la determinación de compuestos fenólicos totales utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y midiendo la absorbancia a 760 nm.	67
Figura 4-21: Fenoles totales en rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=00,22).....	68
Figura 4-22: Contenido de ácido ascórbico (AsA) en rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD = 2,23).....	69
Figura 4-23: Perfil cromatográfico obtenido con patrones gaseosos. Los tiempos de retención son: O ₂ -2.77 min, N ₂ -2.7 min y CO ₂ -8.6 min.	70
Figura 4-24: Cambios en los niveles de CO ₂ y O ₂ dentro de los empaques con rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0.05. Se emplean letras mayúsculas para los resultados estadísticos de O ₂ y minúsculas para los resultados estadísticos de CO ₂ (LSD O ₂ = 2.90, LSD CO ₂ =0.65)	71
Figura 4-25: Perfil cromatográfico del aceite esencial de romero.	72
Figura 4-26: Compuestos volátiles analizados en la atmósfera del envase (A y B) y en rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero 30 uL (C y D). Perfil cromatográfico (A y C) y área relativa porcentual de los picos (B y D) durante el almacenamiento a 5 °C.....	74
Figura 4-27: Porcentaje de compuestos volátiles retenidos en atmósfera del envase y en tejido de rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero 30 uL durante el almacenamiento a 5 °C.....	76
Figura 4-28: Recuento de bacterias aerobias mesófilas (A) y hongos y levaduras (B) durante el almacenamiento a 5 °C de rodajas de tomates control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD _{Bact.} =0,23 y LSD _{H y L} =0,21).....	77
Figura 4-29: Colonias 1 (A) y 2 (B), y hongo filamentoso (C) aislados de rodajas de tomate.	78
Figura 4-30: Observación microscópica de levadura 1 (A) y levadura 2 (B) aisladas de rodajas de tomate. Aumento 1000 X.	78
Figura 4-31: Crecimiento al cabo de 7 días de incubación a 30 °C del hongo filamentoso aislado de rodajas de tomate en medios de cultivo Czapeck: anverso (A) y reverso (B) y Malta: anverso (C) y reverso (D).	79
Figura 4-32: Vista microscópica de la hifa fértil del hongo filamentoso aislado de rodajas de tomate, donde se puede apreciar la cabeza aspergilar, estipe, la vesícula, las fiálides y algunos conidios. Aumento 1000 X.	80
Figura 4-33: Aspecto de una galería API 20 C Aux	81
Figura 4-34: Recuento de <i>A. Fumigatus</i> inoculado en placas de Petri con medio YGC con y sin tapa, en ausencia (Control) o presencia de vapores de aceite esencial de Romero 30 uL (Tratado) dentro del envase. (LSD= 245). Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05.....	83

- Figura 4-35:** Recuento del *A. fumigatus* obtenido luego de haber inoculado 10^2 y 10^1 conidios totales en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 uL (T) dentro del envase. El asterisco indica diferencias significativas del tratamiento respecto de su control para cada concentración de conidios utilizada en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. **84**
- Figura 4-36:** Recuento de *C. guilliermondii* obtenido luego de haber inoculado, 10^2 y 10^1 UFC totales por placa en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 uL (T) dentro del envase. **84**
- Figura 4-37:** Recuentos de *Kloeckera spp* obtenidos luego de haber inoculado 10^2 y 10^1 UFC totales en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 uL (T). **85**
- Figura 4-38:** Porcentaje de inhibición de *Aspergillus fumigatus* en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05 (LSD=362,9). **87**
- Figura 4-39:** Porcentaje de inhibición de *C. guilliermondii* incubada en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero dentro del envase. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05 (LSD=1467,7). **88**
- Figura 4-40:** Porcentaje de inhibición de *Kloeckera spp.* en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD = 2969). **89**

RESUMEN

Los vegetales frescos cortados son altamente perecederos y es por esto que hoy en día se estudian alternativas que empleen productos naturales y que complementados con la refrigeración permitan alargar la vida útil de los mismos.

Es así que en el presente trabajo se estudió el efecto del empleo de aceites esenciales de especias sobre la calidad nutricional, sensorial y microbiológica de tomate fresco cortado almacenado en atmósfera modificada y refrigeración. En una primera instancia se realizó una prueba sensorial de aceptabilidad por atributos para elegir el estado de madurez del tomate cortado en rodajas y una prueba de ordenamiento por preferencia para seleccionar la forma de presentación del mismo. Es así que resultó seleccionado el estado rojo claro presentado en bandeja rectangular de telgopor. Luego se evaluó el efecto de los aceites esenciales de laurel y romero durante el almacenamiento en atmósfera modificada y refrigeración. Así, los tomates de madurez rojo claro fueron lavados, desinfectados (ClONa 150 ppm, 5 min), secados y cortados en rodajas de 7 mm. Se colocaron 6 rodajas por bandeja, aceite esencial (AE) de laurel y romero (0, 15, 30, 50 y 100 uL) en un papel de filtro sobre un lateral de la bandeja y se envasaron con film PD 961 (Cryovac®) para almacenarlos a 5°C por 13 d. Los respectivos controles no se envasaron con AE. La mejor combinación esencia-concentración se seleccionó utilizando un índice visual que contempló la presencia de hongos, bacterias, exudado y deterioro en las rodajas. El AE de romero (30 y 50 uL) y laurel (30 uL) mostraron un menor índice de deterioro respecto de los controles, aunque el más efectivo fue el AE de romero (30 uL). Esta combinación logró un menor índice de daño de las rodajas de tomate al disminuir el ataque de microorganismos y lograr un mejor aspecto general al cabo de los 13 días. Esta combinación (AE de romero, 30 uL) se empleó en un segundo ensayo en cual se observó que produjo un menor ablandamiento de las rodajas a partir del día 8, sin afectar significativamente la pérdida de peso, el contenido de sólidos solubles y la acidez de las rodajas de tomate rojo claro respecto de las rodajas de tomate control. El tomate mínimamente procesado continuó con la maduración ya que los parámetros de color así lo demostraron, aunque no hubo diferencias entre rodajas controles y tratadas. Si bien la capacidad antioxidante (medida con los radicales DPPH[·] y ABTS^{·+}) y el contenido de fenoles totales (empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu) y ácido ascórbico (por HPLC-DAD) disminuyeron durante el almacenamiento refrigerado no hubo diferencias significativas entre muestras control y tratadas. También se logró una atmósfera modificada pasiva que alcanzó niveles cercanos a 17:2% de O₂:CO₂. Se identificó (por CG-MS) la presencia de los compuestos volátiles α -pineno, canfeno, p-cimeno, 1,8-cineol y L-canfor en el AE de romero empleado. Mientras que, luego de 4 d de almacenamiento, el 1,8-cineol y L-canfor fueron los compuestos mayoritarios en la atmósfera de las bandejas tratadas y los únicos presentes en las rodajas de tomate. Por otro lado, el empleo de AE de romero (30 uL) retrasó significativamente el recuento de bacterias mesófilas totales, hongos y levaduras. A partir de dicha flora nativa se aisló tanto un hongo filamentoso y se identificó mediante claves taxonómicas como *Aspergillus fumigatus*, como dos levaduras que se identificaron como *Candida guilliermondii* y *Kloeckera* spp. mediante el kit API®

20C AUX. Se enfrentaron distintas concentraciones de estos microorganismos ante 30 uL de AE de romero, hallándose que *A. fumigatus* fue más susceptible que *C. guilliermondii* y *Kloeckera* spp. También se analizaron distintas concentraciones de AE frente a la concentración sensible de microorganismos, hallándose que dichos % de inhibición se incrementaban con la cantidad de AE, siendo *A. fumigatus* el microorganismo más sensible.

Los resultados muestran que el empleo de AE de romero en combinación con un empaque en atmósfera modificada pasiva y refrigeración permite mantener en mejor condición a rodajas de tomate. No se vio mayormente afectada la calidad nutricional y sensorial respecto de las muestras controles, pero si se logró mantener una mejor calidad microbiológica. El AE de romero ejerció un efecto antimicrobiano a diferentes concentraciones para la flora nativa aislada e identificada: *A. Fumigatus*, *Candida guilliermondii* y *Candida* spp. Los compuestos terpénicos adsorbidos en el tomate y mayoritarios en la atmósfera que rodea al tejido fueron 1,8-cineol y L-canfor, por lo que pareciera ser que estos compuestos serían los responsables del efecto antimicrobiano observado y que permitió finalmente incrementar el tiempo de vida útil del tomate fresco cortado almacenado en atmósfera modificada y refrigerado.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 TOMATE

1.1.1 Morfología

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas (*Solanaceae*), siendo uno de los frutos tipo baya más estudiados. Esto se debe a su importancia nutricional y económica puesto que es una de las especies hortícolas más cultivadas a nivel mundial, gracias a su gran adaptabilidad, variabilidad, características organolépticas y usos.

El fruto de tomate es una baya de pulpa tierna y jugosa, de forma generalmente sub-esférica, globosa o alargada, presenta varios tamaños dependiendo de su variedad.

Está compuesto básicamente por un pericarpio, tejido locular, placenta y semillas.

- **El exocarpio o epicarpio** está compuesto por una epidermis que no posee estomas, y varias capas subepidérmicas de tipo colenquimático (pared gruesa).
- **El mesocarpio** está compuesto por células parenquimáticas y haces vasculares.
- **El endocarpio** se compone de una capa celular que delimita las cavidades loculares. También son parte del pericarpio las paredes radiales del fruto llamadas septos, que separan las cavidades loculares, y la pared interna llamada columela (Ho y Hewitt, 1986; Gillaspay et al., 1993).
- **El tejido locular** colinda con la placenta (dado que surge a partir de ésta), y se expande durante el desarrollo hasta rodear completamente las semillas.
- **Semillas** se componen del embrión, el endosperma y la cubierta seminal que es la capa más externa de la semilla derivada a partir del tegumento que rodea inicialmente al óvulo (Chamarro, 1995).

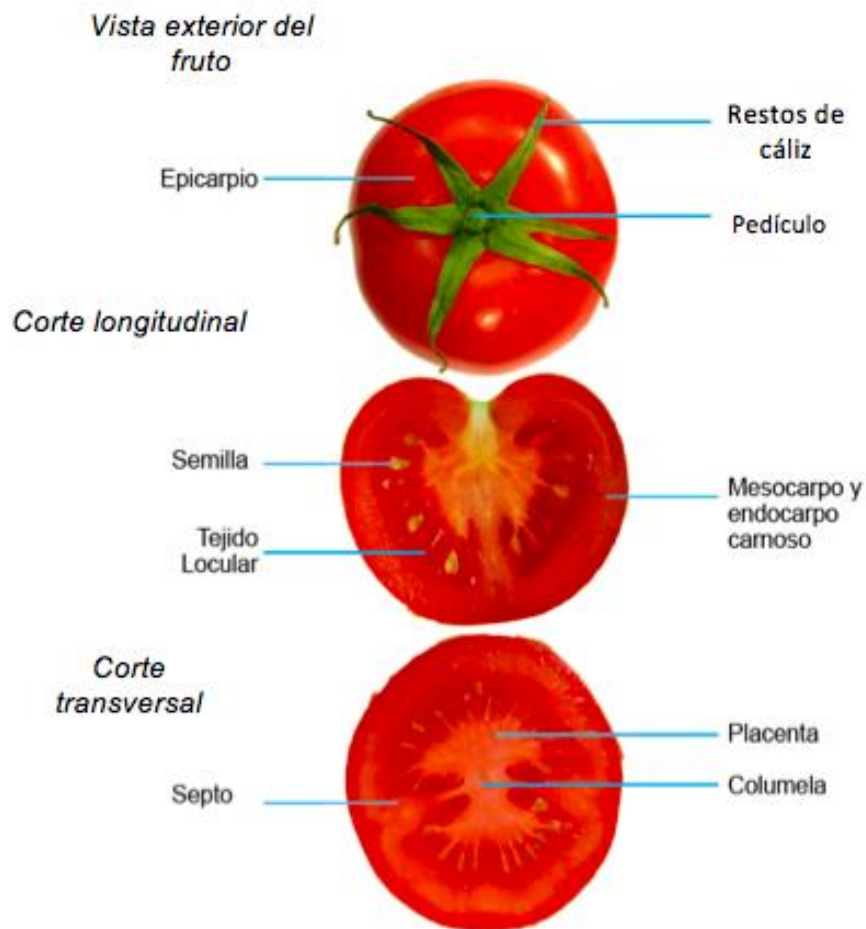


Figura 1-1: Vista externa, corte longitudinal y transversal de tomate

1.1.2 Variedades

Dependiendo de su estado de madurez puede ser de color rojo, rosado, amarillo o verde y de forma redonda, achatada o alargada. Presenta varios tamaños dependiendo de su variedad (**Figura 1-2**).

Las variedades más comunes son:

- **Redondo:** Su diámetro varía entre 65 y 100 mm. Se denominan redondos sólo a aquellos frutos que cumplen con el diámetro especificado. En la provincia de Buenos Aires constituye el tipo más común con un 60% del volumen total de producción.
- **Cherry:** Variedad que produce gran cantidad de frutos pequeños, del tamaño de una cereza, diámetro menor a 40 mm. Tiene un sabor ligeramente dulce, aportado

mayoritariamente por la sacarosa y esta característica lo hace uno de los más apetecibles al consumidor.

- **Perita:** variedad híbrida, sus características comunes son la forma oblonga o de pera, el sabor suave y la gran cantidad de pulpa.
- **Platense:** Variedad de madurez media tardía, es un fruto de forma globular achatada y de consistencia firme. Su tamaño varía de medio a grande, con un peso aproximado 250-300 gr. Excelente sabor. Pese a esta descripción el tomate Platense no proporciona un buen porcentaje de rendimiento puesto que posee mayores problemas en cuanto a la conservación postcosecha respecto a otras variedades.

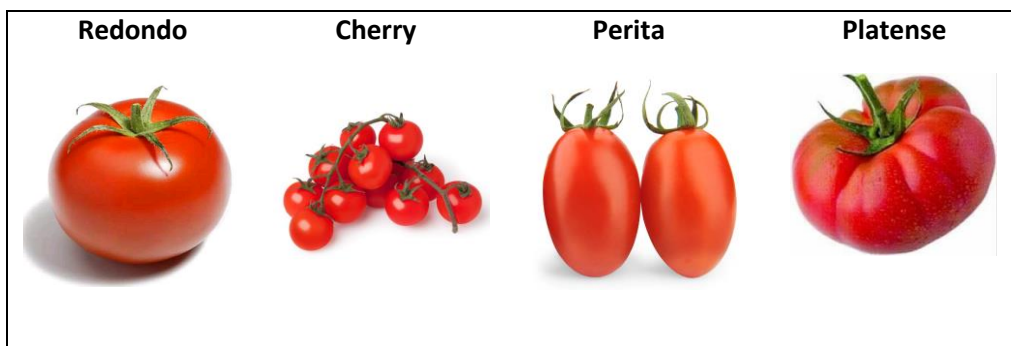


Figura 1-2: Principales variedades de tomate

1.1.3 Valor nutricional

El agua representa entre el 88 y el 95 % del peso del fruto de tomate correspondiendo el mayor valor a los cultivares de industria y el menor a los tipos cereza (o cherry). Con ese alto contenido en agua su valor nutritivo no puede destacarse por su poder energético, sino en sus sales y vitaminas (**Tabla 1-1**). Aunque hay otras frutas y hortalizas con mayores contenidos vitamínicos, el alto consumo del tomate lo convierte en la principal fuente de vitaminas en muchos países. Por ejemplo en Estados Unidos el tomate no ocupa ningún lugar destacado en cuanto a concentración de componentes nutricionales, de hecho el tomate ocupa entre los principales frutos y hortalizas el 16° lugar como fuente de vitamina A y el 13° como fuente de vitamina C. En términos de consumo, sin embargo, el tomate es la 3° fuente de ambas vitaminas en este país, dado por el alto volumen de tomates consumidos.

Tabla 1-1: Composición de frutos de tomate (USDA, 2008).

Nutrientes	Unidad	Valores por 100 g
Agua	g	94,52
Energía	Kcal	18,00
Proteínas	g	0,88
Lípidos totales	g	0,20
Carbohidratos	g	3,89
Fibra, total dietaria	g	1,20
Azúcares, totales	g	2,63
Minerales		
Ca	mg	10,00
Fe	mg	0,27
Mg	mg	11,00
P	mg	24,00
K	mg	237
Na	mg	5,00
Zn	mg	0,17
Vitaminas		
Vitamina C	mg	13,70
Tiamina	mg	0,037
Riboflavina	mg	0,019
Niacina	mg	0,594
Vitamina B-6	mg	0,080
Folato, DFE	µg	15,00
Vitamina B-12	µg	0
Vitamina A, equivretinol	µg	42,00
Vitamina A, UI	IU	833
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0,54
Vitamina D (D2 + D3)	µg	0
Vitamina D	IU	0
Vitamina K (filoquinona)	µg	7,90
Grasas		
Ácidos grasos saturados totales	g	0,028
Ácidos grasos mono-insaturados totales	g	0,031
Ácidos grasos poli-insaturados totales	g	0,083
Colesterol	mg	0

El tomate contiene (20 mg 100 g⁻¹) de ácido ascórbico, cantidad moderada que aporta entre el 20 y 40% de la ración diaria recomendada (Binoy et al., 2003), de igual manera aporta cerca del 20% de las cantidades diarias necesarias de vitamina A.

Por otro lado en los últimos años el tomate ha sido muy estudiado científicamente por el efecto beneficioso que parece tener sobre el organismo humano, varios estudios

confirman que este vegetal parece ser una fuente inagotable de propiedades curativas y preventivas.

El licopeno es un carotenoide que da lugar al color rojo característico de los tomates, el mismo se encuentra entre 2,5 y 3 veces más concentrado en la piel que en la pulpa (Binoy et al., 2003). Posee propiedades antioxidantes y actúa protegiendo a las células humanas del estrés oxidativo, uno de los responsables de las enfermedades cardiovasculares, cáncer y envejecimiento (Rao y Agarwal, 1998). Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de licopeno tiene un efecto beneficioso sobre la salud, reduciendo la incidencia de patologías cancerosas (sobre todo de pulmón, próstata y tracto digestivo) y cardiovasculares (Giovannucci y Clinton, 1998). Si bien aún no se conocen exactamente los mecanismos de su acción protectora, se cree que actúa sobre el estrés oxidativo el cual está ligado al proceso de carcinogénesis (Kris-Etherton et al., 2002).

1.1.4 Madurez del fruto

Tras la fertilización de los óvulos, los carpelos se transforman en un órgano complejo que da lugar a un fruto maduro. Las plantas de tomate producen frutos rojos carnosos como resultado de un proceso de desarrollo que incluye tres fases (Gillaspy, 1993). La primera fase comienza en el estadio de antesis el cual está relacionado con el desarrollo del ovario (cuajado). En la segunda fase, el crecimiento del fruto ocurre principalmente como consecuencia de divisiones celulares, es en esta fase donde comienzan a desarrollarse los embriones. En la tercera fase termina la división celular y el fruto continúa creciendo a través de expansión celular hasta que alcanza su tamaño final. El tiempo necesario para que el ovario se convierta en fruto maduro puede tardar entre 7 y 9 semanas desde la antesis (Chamarro, 1995). Esto es conocido como estado verde debido a que si bien el fruto se encuentra superficialmente de color verde (**Figura 1-3**), al realizar un corte del fruto el desarrollo del gel ha ocurrido al menos en forma completa en uno de los lóculos, por lo que se considera que el fruto ha llegado a madurez fisiológica. Este estado constituye el mínimo grado de desarrollo necesario para realizar la cosecha (**Figura 1-4**).



Figura 1-3: Vista exterior e interior de los estados de madurez del tomate: a) verde, b) verde maduro, c) pintón, d) rosado, e) rojo pálido y f) rojo. (Báez y Contreras, 2013)

La madurez comercial se refiere al estado en el cual el fruto es requerido por el mercado, en este estado de desarrollo el producto reúne los requisitos para ser utilizado y consumido (**Figura 1-3 y 1-4**). La sobremadurez es el estado que sigue a la madurez comercial y la preferencia por parte de los consumidores disminuye, fundamentalmente porque el fruto se ablanda y pierde parte del sabor y aroma característicos. Sin embargo, es el punto adecuado para la elaboración de dulces o salsas. La madurez comercial puede coincidir o no con la madurez fisiológica. En la mayor parte de los frutos el máximo desarrollo se alcanza antes que el producto alcance el estado de preferencia de los consumidores pero en aquellos que son consumidos inmaduros tales como pepino, zuchinis, chauchas, arvejas, hortalizas baby, etc. la madurez comercial se alcanza mucho antes que la fisiológica (FAO, 2007).

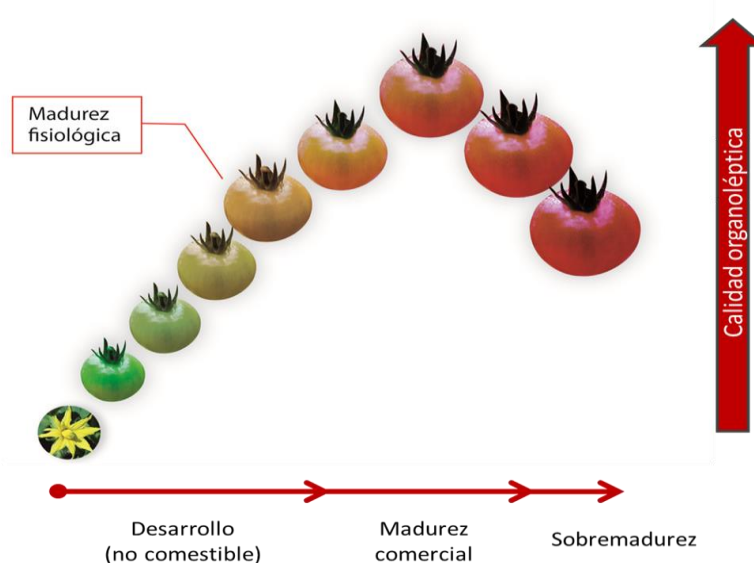


Figura 1-4: Calidad organoléptica de un fruto en función de su madurez. (FAO, 2007)

Una vez que el fruto está completamente desarrollado y las semillas alcanzan la madurez fisiológica, la respiración se incrementa junto con la síntesis de etileno, lo que lleva a la maduración. Esto trae como consecuencia cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan parámetros como color, textura, aroma, sabor y contenido nutricional.

Como se describió anteriormente, en la maduración ocurren reacciones de síntesis y degradación, por ejemplo el desarrollo de color rojo característico se debe a la acumulación de licopeno y β -caroteno y degradación de clorofila (Hanson et al., 2004). Una alta proporción de la materia seca del fruto de tomate maduro está aportada por los azúcares (glucosa y fructosa) y ácidos orgánicos (Davies y Hobson, 1981), los cuales contribuyen al sabor del mismo. Los cambios de textura o ablandamiento se asocian con alteraciones en las paredes celulares, mientras avanza el desarrollo del fruto se observa un incremento en la hidratación de los polisacáridos, muchos polímeros de la pared (principalmente pectinas y hemicelulosas) sufren procesos de depolimerización y solubilización (Rose et al., 2003).

Todas estas modificaciones en los componentes de pared se atribuyen a la acción de diversas enzimas presentes en el apoplasto tales como galactosidasa (Smith et al., 1998), entre otras.

El marcado incremento de la respiración y producción de etileno ocurren desde el comienzo de la maduración y son características específicas de los frutos climatéricos como el tomate. En estos frutos la respiración es mínima al inicio de la maduración, para después comenzar a aumentar alcanzando un máximo conocido como pico climatérico y luego decae. En tomate, este pico en la respiración es precedido por el aumento en la producción de etileno.

La respiración es el proceso mediante el cual diferentes compuestos orgánicos como carbohidratos, proteínas y grasas son oxidados a compuestos más simples (CO_2 y H_2O) consumiendo oxígeno y con una consecuente liberación de energía (Kader, 2002). Parte de esta energía se elimina como calor, y una fracción importante se almacena como ATP para su utilización en otras reacciones metabólicas. La tasa respiratoria es un parámetro importante en la vida poscosecha de los productos fruti-hortícolas, puesto que la velocidad de deterioro (percecibilidad) es directamente proporcional a la velocidad de respiración. Así por ejemplo, productos como el tomate con tasas respiratorias moderadas ($10\text{-}20 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, a $5 \text{ }^\circ\text{C}$) muestran una capacidad de almacenaje más

elevada que hortalizas con alta tasa respiratoria como por ejemplo brócoli (40-60 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, a 5 °C).

A su vez, el etileno (C₂H₄) es una hormona vegetal, responsable de regular muchos aspectos del crecimiento, desarrollo y senescencia y es fisiológicamente activo en cantidades traza (≤ 0,1 ppm). Es producida por todos los tejidos de plantas superiores y por algunos microorganismos. Su producción puede incrementarse debido a algunos factores como el estado de madurez en la cosecha, los daños físicos, la incidencia de enfermedades, el incremento de la temperatura (hasta 35-40 °C) y el estrés por sequía, entre otros. Por otra parte, los niveles de C₂H₄ pueden reducirse durante la postcosecha con el almacenamiento a baja temperatura y/o reduciendo el nivel de O₂ (< 8%) y elevando el de CO₂ (> 2%).

1.1.5 Producción y consumo

El tomate es una de las hortalizas de mayor producción y valor económico, puesto que su demanda aumenta continuamente junto con su cultivo, comercio y distribución. La superficie mundial del tomate fresco cultivado en el año 2007 fue de 4 millones de has. (**Tabla 1-2**), con una producción de 126,2 millones de toneladas y un rendimiento medio de 27.289 Kg ha⁻¹ (FAO, 2007).

Tabla 1-2: Producción, superficie y rendimiento de los principales países productores en el mundo (FAO, 2007)

Países	Producción (t)	Superficie (ha)	Rendimiento (Kg/ha)
Asia	67.798.472	2.827.803	23.975
- China	33.645.000	1.455.200	23.120
- Turquía	9.919.673	270.000	36.739
- India	8.585.800	479.200	17.916
Europa	20.497.562	594.643	34.470
- UE	15.764.070	300.901	52.389
América N. y Central	15.468.766	327.554	44.712
- EEUU	11.500.000	175.000	65.714
- Méjico	2.900.000	130.000	22.307
América Sur	6.415.428	141.088	45.471
- Brasil	3.364.438	56.678	59.360
- Chile	1.270.000	19.500	65.128
África	14.507.140	660.215	21.973
- Egipto	7.550.000	194.000	38.917
- Túnez	1.000.000	26.300	38.022
- Marruecos	1.140.000	20.000	57.000
Mundo	126.246.708	4.626.232	27.289

Gran parte de la producción de tomate se destina al procesamiento industrial. Los principales países procesadores de tomate que concentran el 90 % de la producción mundial son Estados Unidos, seguido por China, Italia y Turquía (**Figura 1-5**). El resto se cosecha en el hemisferio sur (Chile, Brasil, Argentina, Australia). Argentina ocupa el puesto 13 en el ranking y participa en promedio con el 1 % del total mundial (Instituto de Desarrollo Rural 2013). En la última década el hecho más relevante es el crecimiento de la producción china impulsado por su desarrollo económico y su enorme población.

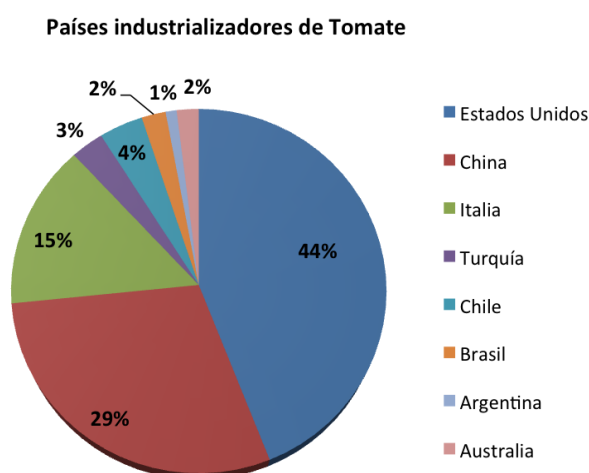


Figura 1-5: Principales países industrializadores de tomate (Instituto Desarrollo Rural- Mendoza, 2013).

La producción nacional de esta hortaliza se ubica cerca de un millón de toneladas anuales (SAGPYA, 2008). Buenos Aires, Corrientes, el Noroeste argentino (NOA) y Mendoza se encargan de abastecer el mercado en fresco, mientras que esta última provincia abastece el 70% del mercado industrializado.

Por su parte, la provincia de Buenos Aires tiene dos grandes zonas dedicadas a la producción, una en el cinturón verde que rodea a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y La Plata, donde se destacan los municipios de La Plata (268 ha, 66,7 % de la superficie provincial) y Florencio Varela (23 ha, un 5,7 %) y la otra en el cinturón verde de Mar del Plata que se encuentra en el municipio de General Pueyrredón donde se destinan cerca de 61 ha, es decir un 15,1% de la superficie provincial. Actualmente existen 3856 unidades de producción horti-frutícolas en la Provincia de Buenos Aires y aproximadamente un tercio de las mismas se encuentran en el partido de La Plata (CHFBA,

2005). La producción total se ubica en unas 3000 ha, de las cuales 1000 corresponden a la producción en invernaderos. Esto hace que la región mencionada sea una de las principales proveedoras de frutas y hortalizas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Conurbano bonaerense, siendo el tomate el de mayor volumen de producción dentro de las hortalizas de fruto. La producción en invernáculos ha permitido, por un lado, extender los períodos productivos, pero principalmente incrementar los rendimientos por unidad de superficie. En la actualidad el 80% del volumen de tomate producido en la región se obtiene bajo cubierta.

En Argentina el tomate es la segunda hortaliza más consumida (16 kg por persona por año), después de la papa (SAGPYA, 2008). Una de las razones de la amplia aceptación del tomate se debe al aspecto exterior del fruto (forma, tamaño y color) y a las cualidades internas como sabor, aroma, textura. La preferencia de los consumidores por distintos tipos de tomate es variable y dependen en gran parte al uso al que se lo destine. Así el tomate perita es adecuado para la producción de pasta o puré por su gran proporción de pulpa, el tomate cherry se lo emplea en ensaladas y preparación de platos gourmet, y el tomate redondo en ensaladas y cortado en rodajas para incorporarlo en sándwiches o sobre pizzas.

La tendencia actual del consumidor es preferir alimentos que no demanden demasiado tiempo en su cocción o elaboración, y que los mismos conserven sus características organolépticas y de calidad, lo cual lleva a la necesidad de realizar estudios para presentar productos listos para usar o mínimamente procesados en fresco, es decir pelado y/o cortado y en un envase que facilite su consumo preservando sus características sensoriales.

1.2 VEGETALES MINIMAMENTE PROCESADOS FRESCOS

1.2.1 Clasificación

El consumo de hortalizas y frutas aporta varios beneficios para la salud, ya que son fuente de minerales, vitaminas, fibra alimentaria y agua, además su aporte calórico es significativamente menor al de otros alimentos. Sin embargo en muchos países el consumo de vegetales no se cumple con lo recomendado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y por la Organización Mundial de la Salud (OMS), que es de 400 g de frutas y hortalizas por día por persona. Como se mencionó anteriormente, esto puede ser causa del tiempo de elaboración prolongado que necesitan estos alimentos para su preparación y cocción.

Hoy en día existe una gran variedad de productos fruti-hortícolas en el mercado se las clasifican en las siguientes gamas:

- **I GAMA:** Vegetales frescos enteros. Constituida por alimentos frescos, como frutas y hortalizas, conservados mediante métodos tradicionales como la refrigeración, deshidratación y encurtido.
- **II GAMA:** Productos en conserva. Alimentos a los cuales se les ha realizado un tratamiento térmico para su conservación, como esterilización. Estos se han envasado en recipientes herméticos como latas o envases de vidrio. Se los llama conservas.
- **III GAMA:** Productos congelados. En este grupo se consideran los alimentos conservados por frío (congelación). Estos alimentos son congelados en crudo, por lo tanto es necesaria su descongelación para cocinarlos antes de consumirlos. En estos productos es imprescindible que no se rompa la cadena de frío, por lo que se deben transportar en condiciones isotérmicas y respetando las condiciones de almacenamiento y uso.
- **IV GAMA:** Productos mínimamente procesados en fresco (MPF): A esta gama la componen hortalizas y frutas frescas, preparadas mediante operaciones unitarias como selección, pelado, cortado, lavado y envasado. Son conservadas y distribuidas en refrigeración, las mismas están listas para ser consumidas crudas sin ningún tipo de operación adicional.

- **V GAMA:** Productos pre-cocidos: son productos tratados por calor, listos para consumir en forma ya cocida, no frescos. Los mismos se comercializan refrigerados. En el presente trabajo de tesis se trabajará con rodajas de tomate fresco, por lo que constituyen productos IV Gama o MPF. A continuación desarrollaremos más en detalle las características de los productos y formas de conseguir un producto IV Gama.

1.2.2 Proceso de elaboración de productos mínimamente procesados en fresco.

El proceso de producción depende de la materia prima y el producto final que se desee obtener, sin embargo en la mayoría de los procesos de elaboración de frutas y hortalizas mínimamente procesadas están presentes similares operaciones unitarias (**Figura 1-6**).

En el proceso de elaboración de estos alimentos es importante mantener temperaturas reducidas desde la preparación inicial hasta la conservación posterior, esto permitirá mantener el producto con sus características de fresca desde la producción, pasando por la elaboración y hasta el consumo. De esta manera el producto mantiene sus propiedades naturales y de fresca, con la diferencia de que llega al consumidor, lavado, troceado y dentro de un envase.

Si analizamos en detalle las distintas etapas involucradas en la preparación de los productos IV Gama podemos mencionar:

- **Materia prima:** La materia prima a utilizar debe ser de alta calidad evitándose destinar al procesamiento aquellos productos que hayan sufrido deterioro pronunciado. En esta etapa se realiza una inspección visual con el fin de controlar las características organolépticas del producto ya que se debe asegurar la calidad óptima de la materia prima lo cual es un factor fundamental en la elaboración de MPF.
- **Almacenamiento y pre-enfriamiento:** Es necesario almacenar la materia prima a temperaturas de refrigeración previa a los procesos de transformación, con el fin de retrasar los procesos metabólicos del producto.
- **Selección y clasificación:** En esta etapa se realiza una selección y clasificación de los productos según su forma, tamaño, color, firmeza, daños superficiales, etc. Los vegetales que no cumplan con las características deseadas son separados con el fin de que estos no perjudiquen la calidad del resto de los vegetales.

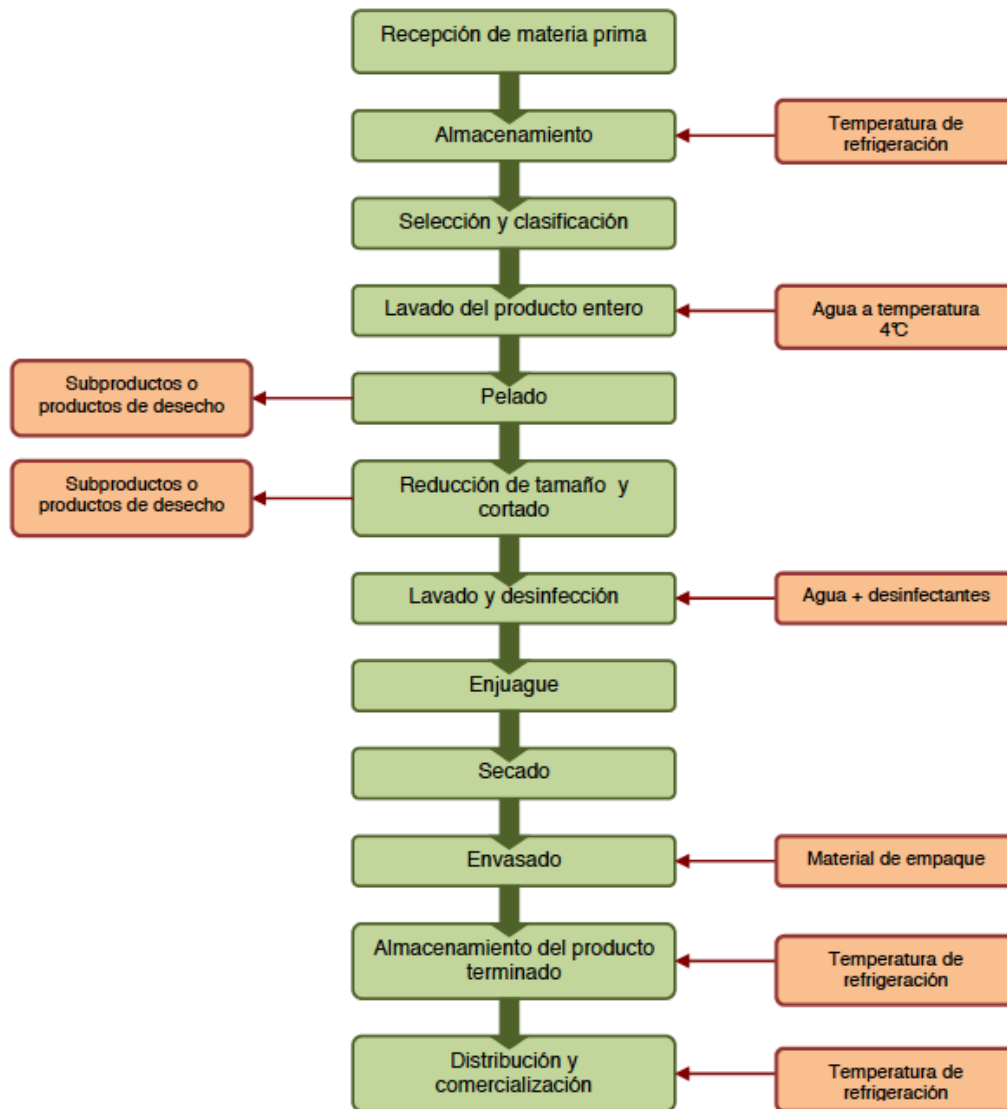


Figura 1-6: Diagrama de flujo de procesamiento mínimo de vegetales (Parzanese. 2012).

- **Lavado:** El objetivo es separar y eliminar sustancias extrañas que pueden estar presentes en los vegetales, frutas u hortalizas, después de su recolección y transporte, mediante la utilización de agua a 4 °C. Puede realizarse en forma manual o mecánica.
- **Pelado:** Esta operación consiste en separar la corteza o piel del vegetal, en caso de que así se lo requiera. Se debe evitar que durante el pelado el producto no sufra otros daños físicos ni químicos. Se puede utilizar diferentes métodos como pelado al vapor, pelado al cuchillo, pelado por abrasión, los cuales no causan deterioro en las características del producto.
- **Reducción de tamaño y cortado:** El objetivo es dar forma y tamaño definido a las frutas y hortalizas y el tipo de corte que se desee obtener (cubos, rodajas, tiras,

rallado, etc.). Estas operaciones causan daños mecánicos y cambios metabólicos y fisiológicos lo que ocasiona el rápido deterioro del tejido vegetal. Por lo que es necesario enfriar el producto hasta 4°C inmediatamente después del cortado.

- **Lavado y desinfección:** Es una etapa importante del proceso, puesto que influye en la inocuidad y vida útil del producto final. Su objetivo es eliminar los fluidos celulares que fueron liberados tras el corte y que pueden favorecer el crecimiento microbiano y el pardeamiento (Ahvenainen, 1996; Artés, 2000), se consigue disminuir la contaminación microbiana inicial por efecto del lavado-desinfección con hipoclorito sódico (100-150 ppm a pH 6,5) (Artés-Hernández et al., 2009).

Se han desarrollado sistemas de desinfección como alternativa al uso de cloro y sus derivados para conservar adecuadamente al producto vegetal y prolongar su vida útil. Estas alternativas se aplican en forma previa o posterior a la de secado, dependiendo de los requerimientos de cada una. Se utilizan tratamientos físicos como tratamientos térmicos de alta temperatura (en agua o aire), tratamientos UV-C, atmósferas modificadas, tratamientos químicos con antioxidantes, agentes de recubrimiento, texturizantes (soluciones salinas), conservantes (ácido benzoico y sórbico), y antimicrobianos naturales (aceites esenciales).

- **Secado:** Es una etapa importante para garantizar la calidad durante el tiempo de vida útil del producto. Dependiendo de sus características se puede realizar un secado centrífugo, o secado por aire frío. El proceso de secado debe remover al menos la misma cantidad de agua que el producto retuvo durante su procesamiento (Kader, 2007).
- **Envasado:** Tiene como finalidad proteger al producto de daños físicos, químicos o microbiológicos durante el almacenamiento y comercialización. Para esto se utilizan bolsas o bandejas cubiertas procurando controlar su peso neto y sobre todo la ausencia de materias extrañas provenientes de desperfectos en la línea de procesamiento.
- **Distribución y comercialización:** En esta etapa se debe garantizar la integridad de la cadena de frío, para evitar la pérdida de calidad y la disminución de la vida útil del producto, lo que ocasionaría finalmente una importante pérdida económica.

1.2.3 Cambios en procesos fisiológicos y metabólicos

Los vegetales frescos cortados sufren varios cambios en su estructura y composición. Los mismos son consecuencia de la manipulación durante su procesado, esto expone a los tejidos internos a la atmósfera, promoviendo la deshidratación y rápido deterioro observando cambios en la textura (debido a la pérdida de agua) y en el color atribuido al pardeamiento oxidativo en las superficies cortadas (Brecht, 1995). La rotura del tejido por el corte incrementa la velocidad de respiración, y por lo tanto un consumo más rápido del O_2 en el envase, específicamente en vegetales climatéricos ocurre también el aumento de la producción de etileno, lo cual contribuye a la síntesis de enzimas involucradas en reacciones bioquímicas de maduración. Además, el corte aumenta la superficie de tejido susceptible de alteración microbiana.

Como se mencionó anteriormente durante las operaciones de corte y pelado las membranas sufren modificaciones, liberando enzimas que reaccionan con sustratos provocando pérdida de calidad sensorial y nutricional del vegetal. La alteración más común es el pardeamiento enzimático que se presenta generalmente en frutas y hortalizas peladas y troceadas. Esta reacción es catalizada por las enzimas polifenoloxidasas (PPO). Éstas en presencia de oxígeno (O_2) hidroxilan compuestos fenólicos presentes en los tejidos vegetales que terminan generando o-quinonas, las cuales producen pigmentos pardos o melaninas.

De igual forma, debido a la deshidratación hay pérdida de firmeza del vegetal ocasionado por la acción de las enzimas pectin esterases (PE) y poligalacturonasas (PG). Las cuales catalizan reacciones de hidrólisis de las sustancias pécticas. Las pectinas forman parte de la pared celular otorgando la textura característica a los tejidos vegetales. Cuando estas enzimas hidrolizan compuestos pécticos se produce la pérdida de turgencia celular y de la textura natural del producto.

Lo descrito anteriormente indica que los alimentos de IV-Gama son muy vulnerables a la contaminación microbiana, esto sumado a su rápido deterioro reducen el periodo de comercialización del producto. Por lo tanto resulta indispensable combinar tecnologías poscosecha con una adecuada refrigeración a fin de poder extender el período de vida útil para su comercialización.

1.2.4 Tecnologías poscosecha en productos mínimamente procesados

Generalmente los productos MPF presentan mayor perecibilidad, su corta vida útil tiene como consecuencias problemas en la producción y distribución de los mismos.

Dependiendo del producto, de las tecnologías de poscosecha, y de su implementación, la vida de los productos mínimamente procesados suele ser de entre 7 y 14 días. Las tecnologías de conservación comúnmente aplicadas son:

1.2.4.1 Refrigeración

Cuando los vegetales se exponen a temperaturas bajas, por encima de las de congelación, se inactivan las enzimas responsables de catalizar reacciones de deterioro. De igual manera, se ocasiona la disminución en la velocidad de reproducción y crecimiento de microorganismos patógenos. En estas condiciones se evidencia una menor tasa respiratoria, así como también una reducción en la producción y sensibilidad al etileno. Por lo tanto, es indispensable mantener la cadena de frío desde la producción hasta la comercialización del producto.

1.2.4.2 Atmósfera modificada

Los productos mínimamente procesados se envasan utilizando películas plásticas poliméricas, siendo importante considerar la permeabilidad del envase, ya que esto logrará modificar la atmósfera en el interior del mismo. Se debe tomar en cuenta que los vegetales continúan respirando y como consecuencia se produce, dentro del envase, una disminución en el contenido de O_2 y un aumento del de CO_2 . En muchos casos se crea una atmósfera modificada de elevada humedad relativa (90-95%) enriquecida en CO_2 por la actividad respiratoria del producto y con baja concentración de O_2 , para reducir la deshidratación, el metabolismo del producto y la velocidad de reacciones involucradas en el deterioro (López Galvez et al., 1996). La respuesta a las atmósferas modificadas depende del tipo de producto y del grado de madurez de los vegetales frescos cortados. Para el caso de tomate maduro y entero, se recomienda 3-5% de O_2 y 3-5% de CO_2 , aunque esta tecnología es poco utilizada ya que los resultados alcanzados no son muy marcados en este producto, como sí lo son en otros (Suslow y Cantwell, 2000). Actualmente existen gran variedad de materiales poliméricos de distinta permeabilidad

con los cuales es posible satisfacer los requerimientos y especificaciones de envasado de productos de la IV Gama.

1.2.4.3 Otras tecnologías

Hoy en día se están empleando cada vez más tecnologías combinadas en el procesamiento de los alimentos puesto que resulta difícil que un único tratamiento logre cumplir con todos los objetivos deseados (Alzamora et al., 1993). Algunas de estas tecnologías son:

1.2.4.3.1 Agregado de ciertos sustratos al agua de lavado

En el agua de lavado se adicionan sustancias con efectos antimicrobianos, desinfectantes, antioxidantes, reguladores de la maduración y/o estabilizantes del color y textura. El cloro es el desinfectante industrialmente más empleado, siendo su forma más efectiva la del ácido hipocloroso (HClO). (González et al., 2005). También el ozono (O₃) resulta ser muy beneficioso en el lavado de productos frescos cortados, ya que reduce la flora microbiana en la superficie de los alimentos (González et al., 2005).

Sin embargo la tendencia actual del consumidor es buscar y consumir alimentos que no tengan tratamientos químicos pero que garanticen la inocuidad y calidad de los productos.

1.2.4.3.2 Tratamientos con luz ultravioleta C (UV-C)

Esta tecnología es no ionizante, no deja residuos químicos, no es tóxica y se aplica en seco por lo que reemplazaría el lavado y el consecuente secado posterior del producto.

La luz UV-C se aplica en productos mínimamente procesados con el objetivo de reducir la carga microbiana dado su gran efecto germicida a 254 nm. (Allende et al., 2006) aunque también se han hallado resultados satisfactorios en retrasar la maduración (Civello et al., 2007) y síntomas de daño por frío (Vicente et al., 2005). Los costos del equipamiento necesario no son elevados.

1.2.4.3.3 Aceites esenciales

La creciente demanda de alternativas a los antibióticos y productos químicos aplicados en alimentos ha incrementado la investigación sobre el potencial de los extractos vegetales, en especial de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos. Diversos estudios determinan que los aceites procedentes de: clavo de olor, canela, mostaza, orégano,

romero y tomillo son los que poseen una actividad antimicrobiana más acentuada (Deans, 1987).

En el presente trabajo se combinará esta última tecnología para la conservación de tomate cortado, por lo que a continuación se detalla mayor información de la naturaleza, propiedades y usos de los aceites esenciales.

1.3 ACEITES ESENCIALES

1.3.1 Generalidades

Se denominan aceites esenciales (AE) al conjunto de los principales productos orgánicos que existen en diversas partes de las plantas obtenidas a partir de las mismas mediante destilación en corriente de vapor. Son mezclas complejas de hasta 100 componentes, entre ellos: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, y ésteres), monoterpenos, sesquiterpenos, y fenilpropanos que determinan el aroma característico de la planta donante (Batish et al., 2008).

Se conocen aproximadamente 3000 plantas con potencial antimicrobiano, de las cuales 300 tienen importancia comercial (Burt, 2004). Los principales extractos vegetales con actividad antimicrobiana son los aceites esenciales. Los mismos son clasificados por su consistencia y se denominan con el mismo nombre de la planta de la cuál provienen (planta donante), por ejemplo: AE de romero, AE de orégano, AE de jazmín, AE de eucalipto.

1.3.2 Clasificación

Los aceites esenciales se pueden clasificar según diferentes criterios como consistencia, origen, y naturaleza química.

- **Según su consistencia:** los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas.

Las esencias *fluidas* son compuestos líquidos, volátiles a temperatura ambiente.

Los *bálsamos* son extractos naturales obtenidos generalmente de un arbusto o un árbol, poseen consistencia más espesa, y son poco volátiles, pero muy susceptibles a sufrir reacciones de polimerización.

Las *oleorresinas* tienen el aroma de las plantas en forma concentrada, generalmente son líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas, por ejemplo oleorresina de pimentón, pimienta negra, clavo, etc. También se conocen como oleorresina a los extractos vegetales obtenidos mediante el uso de solventes, los mismos deben estar libres de dichos solventes. Se utilizan para sustituir especias de uso alimenticio y farmacéutico gracias a su estabilidad y facilidad de incorporar al producto terminado.

- **Según su origen** los aceites esenciales se pueden clasificar como naturales o artificiales y sintéticos.

Los *naturales* se obtienen directamente de la planta y no sufren alteraciones físicas o químicas posteriores, puesto que su rendimiento es muy bajo son generalmente muy costosos.

Los *artificiales* se obtienen mediante enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, p.ej. esencia de anís enriquecida con anetol.

Los *sintéticos* se producen por la combinación de sus componentes, los mismos son producidos por síntesis química, por lo tanto son más económicos y generalmente utilizados como aromatizantes y saborizantes p.ej. esencia de vainilla, limón, etc.

- **Según su naturaleza química**, debido a su compleja composición con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se clasifican de acuerdo al tipo de compuestos mayoritarios presentes.

Debido a la variación de compuestos del aceite esencial incluso dentro de la misma especie, se aplica el término quimiotipo el cual se refiere a una entidad químicamente distinta, la cual lo hace diferente por sus metabolitos secundarios, pequeñas variaciones como ambientales, geográficas, etc. Las mismas no afectan su composición morfológica pero producen cambios significativos a nivel de fenotipo químico. Es así que se encuentran AE *monoterpenoides* (p.ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.), *sesquiterpenoides* (p.ej. pino, junípero, etc.) y *fenilpropanoides* (p.ej. clavo, canela, anís, etc.).

1.3.3 Características físicas de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son volátiles y líquidos a temperatura ambiente, son incoloros o ligeramente amarillos posterior a su destilación. Presentan una densidad inferior a la del agua. Son apolares, por lo tanto poco solubles en agua, son liposolubles y pueden ser extraídos de los productos donantes a través de la destilación por arrastre con vapor de agua. Son solubles en alcoholes y en solventes orgánicos como cloroformo, éter, etc. Varios factores influyen en la composición de un aceite, entre ellos están el origen de la planta, la especie, condiciones climáticas y de crecimiento. De igual manera influyen la

destilación, y la forma de conservar el aceite, puesto que al ser sustancias volátiles deben almacenarse adecuadamente para proteger su integridad.

Al analizar la fracción volátil de la misma por cromatografía gaseosa, se logra identificar los componentes mayoritarios y los porcentajes relativos de los mismos. Mediante este método se puede identificar prácticamente la totalidad de la fracción volátil analizada.

1.3.4 Características químicas de los aceites esenciales

Se ha comprobado que los aceites esenciales están compuestos por componentes volátiles o metabolitos secundarios sintetizados a partir de distintas rutas metabólicas, por ejemplo:

- Vía metabólica del ácido mevalónico: Terpenoides
- Vía metabólica del ácido siquímico: Fenil propanoides
- Vía metabólica de biosíntesis de ácidos grasos: Compuestos alicíclicos.

1.3.4.1 Terpenoides

Son un grupo de compuestos naturales que conforman sustancias químicas que derivan biosintéticamente del ácido mevalónico (AMV) que origina el compuesto isopentenil pirofosfato (Porter y Spurgeon, 1983). A partir de allí se sintetizan por una conexión “cabeza con cola” de unidades de isopreno, el cual está constituido por cinco átomos de carbono. Por consiguiente los compuestos con un solo isopreno son los hemiterpenos (C5), monoterpenos los de dos (C10), sesquiterpenos los de tres (C15), diterpenos con cuatro (C20), triterpenos con seis (C30), tetraterpenos con ocho (C40), etc., estas estructuras se resumen en la **Tabla 1-3**. Es así que todos ellos pueden ser divisibles formalmente en unidades de isopreno, cuya unión será en general en forma de “cabeza con cola” (*regla del isopreno*). Si cumplen esta regla serán terpenos *regulares*, mientras que si no la cumplen serán terpenos *irregulares*. Esta regla no tiene en cuenta si el compuesto contiene dobles enlaces o grupos funcionales oxigenados, sino solamente el esqueleto carbonado.

La mayoría de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos son compuestos cíclicos, con estructuras típicas de cada uno de estos compuestos como β -pineno, p-cimeno, ácido abscísico, vitamina A y colesterol, aunque también se encuentran ejemplos de sustancias lineales como el fitol. Los tetraterpenos, p.ej. los carotenoides, difieren del

resto de grupos de compuestos isoprenoides en que no presentan ciclación del esqueleto de carbono principal, con excepciones como en el caso de β -caroteno (Duan y Moeller, 2001; Sirisoma et al. 2001).

Tabla 1-3: Clasificación de terpenoides y algunos ejemplos de los mismos.

Clasificación	Unidades de isopreno	Carbonos	Nombre del compuesto	Estructura
Hemiterpeno	1	5	Isopreno	
Monoterpeno	2	10	p-cimeno	
Sesquiterpeno	3	15	Acido Abscísico	
Diterpeno	4	20	Vitamina A Fitol	
Triterpeno	6	30	Colesterol	
Tetraterpeno	8	40	Licopeno β -caroteno	



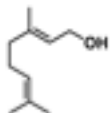



Los componentes mayoritarios de los aceites esenciales pueden llegar al 85% del total, y el resto se presentan como trazas. Estudios demuestran que los componentes de menor proporción cumplen funciones importantes en la actividad antimicrobiana debido al efecto sinérgico entre ellos, por lo tanto el aceite esencial entero tendrá una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios.

Los terpenos más comunes presentes en los aceites esenciales son los de menor peso molecular, por lo tanto son los más volátiles como los monoterpenos y sesquiterpenos.

- **Monoterpenos**

Están compuestos por 10 átomos de carbono y poseen dos unidades de isopreno. En su estructura pueden presentar hidrocarburos, alcoholes, aldehídos y compuestos oxigenados que componen isómeros tanto funcionales como de posición y geométricos (**Tabla 1-4**). Son considerados como una de las grandes familias de productos naturales (Grayson, 2000). Los olores que emanan de las plantas, flores y frutas son debido a la liberación de monoterpenos, en general. También se han hallado en las familias de angiospermas, y en menor medida en hongos y plantas no vasculares (Guenther, 1982). Estos compuestos pueden o no cumplir la regla del isopreno, (unión cabeza-cola) pudiendo presentar estructuras acíclicos o cíclicas mono- y bi-cíclicas (Porter y Spurgeon, 1983). En el presente trabajo empleamos el AE de romero, donde se han hallado compuestos tales como: α - y β -pineno, canfeno, p-cimeno, β -felandreno, 1,8-cineol, L-canfor, β -mirceno, entre otros (Turek y Stintzing, 2012; Szummy et al., 2010).

Tabla 1-4: Clasificación de monoterpenos según su estructura y ejemplos de los mismos.

ACÍCLICO			
Hidrocarburo saturado	Mirceno		
			
Hidrocarburos oxigenados	Linalol	Geraniol	
			
MONOCÍCLICO			
Hidrocarburo saturado	p-cimeno	β -felandreno	Limoneno
			

	α -terpineol	Mentol	
Hidrocarburos oxigenados			
BICÍCLICO			
	α -pineno	β -pineno	Canfeno
Hidrocarburos Saturados			
	L-canfor	1,8-cineol	
Hidrocarburos Oxigenados			

- **Sesquiterpenos**

Su estructura la componen 15 átomos de carbono y 3 unidades de isopreno, están ampliamente distribuidos en la naturaleza en plantas no vasculares y con mayor frecuencia en hongos. Presentan gran variedad ya que se pueden encontrar hidrocarburos, alcoholes, cetonas, ésteres, glicósidos y alcaloides sesquiterpénicos. Tienen una volatilidad relativa y varios de los compuestos están presentes en aceites esenciales.

No son metabólicamente inertes, se sintetizan y catabolizan rápidamente en el metabolismo vegetal. Ya que los sesquiterpenos tienen una unidad de isopreno más que los monoterpenos presentan mayor variabilidad estructural y funcional, debido a esto y según el número de anillos de la molécula, se los puede clasificar en acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos.

1.3.4.2 Fenilpropanos

Son sustancias naturales que se encuentran mayormente en los vegetales, su estructura se caracteriza por un anillo aromático unido a una cadena de 3 átomos de carbono y derivados del ácido shikímico, su cadena lateral puede presentar insaturaciones o

funciones oxigenadas (aldehído y carboxilo). Generalmente el anillo aromático está sustituido en los carbonos 3, 4 y 5, por grupos hidroxilo, metoxilo, principalmente.

1.3.5 Usos de los aceites esenciales en alimentos

En varias investigaciones los aceites esenciales han demostrado propiedades antibacterianas, antimicóticas, antiparasitarias e insecticidas (Burt, 2004; Gutierrez et al., 2008, Ponce et al., 2008). Algunos de los aceites esenciales que han sido ensayados en alimentos son: eucalipto (*Melaleuca alternifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis*), menta (*Mentha piperita*), rosa mosqueta (*Rosa moschata*), trébol (*Syzygium aromaticum*), limón (*Citrus limonum*), orégano (*Origanum vulgare*), etc.

Diversas hierbas aromáticas y especias han sido utilizadas durante siglos como condimentos para alimentos, pero también como preservantes. Hoy en día los aceites esenciales son muy estudiados para su uso en la industria de los alimentos por sus propiedades medicinales y antimicrobianas. El desarrollo de tecnologías no tradicionales de conservación de alimentos, donde su finalidad es la conservación de las características originales del alimento, abrió el camino a la aplicación combinada de distintos métodos, proporcionando un amplio campo de investigación para los extractos de aceites esenciales. Un ejemplo de esto, es la aplicación de películas comestibles enriquecidas con extractos vegetales y diferentes sustancias con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Las películas comestibles disminuyen las pérdidas de humedad, de aromas y la permeabilidad al O₂, reduciendo el deterioro del alimento. El enriquecimiento con aceites esenciales de las películas comestibles permite la lenta liberación del agente antimicrobiano prolongando su acción (Ramos et al., 2010).

Debido a que los efectos antimicrobianos generados por los aceites esenciales siguen en estudio, son escasos los reportes que indican su aplicación en alimentos, sin embargo dentro de estas investigaciones se ha mostrado un efecto positivo al utilizar aceites esenciales en fase vapor principalmente en empaques activos (Skandamis y Nychas, 2002; Ávila-Sosa et al., 2012).

Tzortzakis (2007) evaluó la calidad de dos vegetales como fresa y tomate, los cuales fueron expuestos a vapores de aceites esenciales de eucalipto y canela. Donde se demostró que los dos vegetales, además de tener una protección contra

microorganismos conservaron su calidad al estar expuestos a vapores de aceites esenciales. Tzortzakis (2007) también menciona que existe un uso potencial al incorporar aceites esenciales en fase vapor en empaques o envases activos.

De igual forma Phillips et al., (2011) comprobaron el poder antifúngico de una mezcla de aceites esenciales en fase vapor de bergamota y naranja, al exponerlos en tomates y granos. En este estudio se demostró que la mezcla de aceites esenciales en fase vapor no fue tan efectiva en reducir la población de *A. Alternaria* en tomate pero si funcionó como antifúngico y no alteró las propiedades organolépticas de los granos.

De la misma manera varios estudios *in vitro* han investigado propiedades antimicrobianas del aceite esencial de romero (*R. officinalis*), mostrando como resultado que este aceite esencial exhibió un amplio espectro de acción antimicrobiana para bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (Moreira et al.,2005), de igual forma el aceite esencial de romero mostró una apreciable actividad antibacteriana contra cepas de *E.coli*, *S.typhimurium*, *S. enteritidis* y *S.sonnei*, con halos de inhibición entre 19,8 y 25 mm para las cepas evaluadas (Moreira et al., 2005). Un estudio similar demuestra que el aceite esencial de *R. officinalis* presenta importante actividad antibacteriana contra las cepas recién mencionadas, además de poseer una notable actividad antifúngica contra *Candida albicans*, *Trichophyton tonsurans*, y *Trichophyton rubrum* (Bozin et al., 2007).

Si bien existen numerosos estudios sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*L., debe tenerse en cuenta que *in vivo* suelen requerirse mayores concentraciones de los extractos para obtener resultados similares a los estudios *in vitro* (Ponce et al., 2008).

En general la eficacia de los extractos puede verse afectada por ciertos componentes de los alimentos, se cree que altos niveles de grasa y/o proteínas en el alimento protegen a las bacterias de la acción de los extractos (Moreira et al., 2005).

No sólo deben tenerse en cuenta las propiedades intrínsecas del alimento, sino también las extrínsecas, tales como temperatura, características de los microorganismos, etc. Es importante analizar la influencia de estos factores en la actividad antimicrobiana de los extractos propuestos para determinar las condiciones óptimas de aplicación (Gutierrez et al., 2008).

El empleo de aceites esenciales, debe ser en una concentración tal que logre un efecto benéfico en la conservación del producto sin ser rechazado por el consumidor al detectar

un aroma o sabor excesivo, y por otro lado debe emplearse un tipo de hierba aromático que usualmente se consume con el alimento a fin de no producir un rechazo por parte del consumidor. Las hierbas aromáticas que suelen emplearse para acompañar un plato que contenga tomate fresco suelen ser ajo, perejil, orégano, laurel y romero. Se ha empleado el aceite esencial de ajo con buenos resultados (Ayala-Zavala et al., 2009), al igual que la aplicación de aceite esencial de orégano y romero mostraron una disminución significativa en la microflora de vegetales frescos cortados como lechuga, remolacha, rúcula (De Azeredo et al., 2011).

Es por ello que en este trabajo se emplearán aceites esenciales naturales de algunas de estas hierbas aromáticas como técnicas alternativas que complementen a la refrigeración y la atmósfera modificada tendientes a conservar la calidad de tomate fresco cortado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- Optimizar el uso de tecnologías alternativas, a fin de preservar la calidad y extender la vida útil de tomate fresco cortado.

2.1.1 Objetivos específicos

- Seleccionar el tipo de aceite esencial que mantenga la vida postcosecha y la calidad de tomate fresco cortado.
- Analizar el efecto del aceite esencial seleccionado sobre la calidad nutricional, sensorial y microbiológica de tomate fresco cortado.

3 Materiales y Métodos

3.1 EVALUACION SENSORIAL

3.1.1 Selección del estado de madurez

Para determinar el estado de madurez de tomate a emplear se realizó un análisis sensorial de aceptabilidad por atributos, evaluando los parámetros de color y aceptabilidad general mediante una escala hedónica.

El análisis se realizó con un total de 70 panelistas no entrenados, agrupados de a 10 personas a los cuales se les entregó una encuesta y las muestras a evaluar. El modelo de la evaluación se presenta en la **Figura 3-1**.

EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD POR ATRIBUTOS

Fecha: _____ Nombre: _____ Evaluador Nº: _____

Ud. recibirá cuatro (4) alternativas diferentes de rodajas de tomate. Por favor, evalúe sin degustar, la aceptabilidad de cada atributo. Marque con una cruz la casilla correspondiente. Evalúe todos los atributos de la primera muestra, y luego pase a la siguiente, ubicada a la derecha de la anterior.

MUESTRA Nº: _____

	Me disgusta Mucho			Me es indiferente				Me gusta mucho
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad General	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

MUESTRA Nº: _____

	Me disgusta Mucho			Me es indiferente				Me gusta mucho
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad General	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

MUESTRA Nº: _____

	Me disgusta Mucho			Me es indiferente				Me gusta mucho
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad General	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

MUESTRA Nº: _____

	Me disgusta Mucho			Me es indiferente				Me gusta mucho
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad General	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Figura 3-1: Modelo de evaluación sensorial por atributos

Se presentaron cuatro muestras que consistían en una bandeja con seis rodajas de tomate, cada bandeja representó un estado de madurez y fue etiquetada con una numeración aleatoria de 3 dígitos siendo: 640 verde-maduro, 509 rosa, 330 rojo claro, y 859 rojo. Las bandejas se presentaron a los panelistas en un orden aleatorio.

Los panelistas evaluaron las muestras en orden de presentación y según su preferencia en la escala comprendida entre: “Me disgusta mucho” y “Me gusta mucho”. Con el fin de asignar un puntaje a las respuestas se utilizó la escala de 1 a 9, siendo 1 la muestra menos aceptada y 9 a la muestra más aceptada. De esta manera se estimó el puntaje asignado a cada atributo y para cada muestra. Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza empleando la prueba LSD de Fisher para la comparación de medias ($p \leq 0,05$).

3.1.2 Selección de bandejas de presentación

Una vez seleccionado el estado de madurez de los tomates se procedió a evaluar las bandejas en que se presentará el producto.

Se empleó una prueba de ordenamiento por preferencia en la que a un panel de 72 evaluadores no entrenados se les presentó 4 muestras diferentes de bandejas con 6 rodajas de tomate con igual grado de madurez, codificadas con números al azar siendo: 330 bandeja de telgopor rectangular, 859 bandeja de telgopor cuadradas, 640 bandeja de poliestireno ovalada y 509 bandeja de poliestireno rectangular y profunda.

Mediante una encuesta los evaluadores ordenaron las bandejas según su preferencia colocando el código de la muestra que les gusta menos a la que les gusta más de izquierda a derecha, como se muestra en el modelo de planilla (**Figura 3-2**).

ORDENAMIENTO POR PREFERENCIA			
NOMBRE:			CONSUMIDOR N°:
Usted recibirá cuatro bandejas con tomates. Por favor, evaluando sólo el tipo de bandeja (no los tomates), ordénelas según su grado de preferencia, escribiendo el código de la muestra que menos le gusta a la izquierda siguiendo hacia la derecha con la que más le gusta.			
-----	-----	-----	-----
gusta menos			gusta más

Figura 3-2: Modelo de evaluación sensorial de ordenamiento por preferencia.

Para el análisis de los resultados se dio el puntaje desde 1 a 4 en orden creciente de preferencia.

Se calcularon las sumas de los ordenamientos para cada muestra y se evaluaron estadísticamente con la ayuda del test de Friedman. Este test determina si las sumas de los ordenamientos totales para cada muestra difieren significativamente. La fórmula del estadístico de Friedman es la siguiente:

$$F = \frac{12}{N k (k+1)} (R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_k^2) - 3N (k + 1)$$

Donde: N es el número de evaluadores, k el números de muestras y R_1^2, R_2^2, \dots etc., las sumatorias de los ordenamientos de cada muestra. Se determina si hay diferencias significativas si el valor de F es mayor a los valores tabulados para determinados valores de N y k.

Se calculan las diferencias de todos los pares de muestras. Estos valores se comparan con los obtenidos en la siguiente fórmula:

$$|MU - Mv| \geq Z \frac{\alpha}{2} \sqrt{N \frac{K(K+1)}{6}}$$

$$Z (\alpha = 0,05) = 1.96$$

Donde Mv es las sumatoria de las muestras.

Para que dos muestras se consideren diferentes significativamente debe corroborarse la condición anterior.

3.2 TRATAMIENTO CON ACEITES ESENCIALES

3.2.1 Material vegetal

Se utilizaron tomates (*Solanum lycopersicum*) de la variedad Redondo los cuales fueron adquiridos en un comercio de la ciudad de La Plata.

Los frutos fueron preseleccionados, descartando los que tenían algún defecto en su superficie o no tenían la madurez adecuada para el ensayo. Luego se lavaron con agua

potable, se sumergieron en una solución de agua clorada (NaClO 150 ppm) durante 5 min, se secaron y finalmente se cortaron en rodajas de 7 mm descartando la base y la sección superior que circunda el pecíolo. Se colocaron 6 rodajas por cada bandeja.

3.2.2 Selección del tipo y concentración de aceite esencial

Para la selección del tratamiento se ensayaron esencias de laurel y romero puras extraídas de hojas del material vegetal correspondiente mediante destilación por arrastre con vapor de agua provistas por la cátedra de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP. Se colocaron 6 rodajas en bandejas de telgopor rectangulares, las cuales contenían una tira de papel de filtro impregnada con distintos volúmenes (0, 15, 30, 50 y 100 uL) de cada esencia ensayada y fijada en un lateral de la bandeja. A las muestras control no se las sometió al tratamiento con aceites esenciales. Siendo el volumen de la bolsa 1.8 Lts. La concentración de AE se muestra a continuación.

Volumen de AE (uL)	15	30	50	100
Conc. en envase (uL/L)	8.3	16.7	27.8	55.5

3.2.3 Envasado y almacenamiento

Las bandejas control o tratadas ya conteniendo las rodajas de tomate se envasaron con film PD961 (Cryovac®) que posee las siguientes características: Permeabilidad: O₂: 3000 cm³.m⁻², CO₂: 9.800 cm³.m⁻² 24 h a 23 °C, V. de agua: 80.08 cm³.m⁻² 24 h a 23 °C.

Se utilizó una selladora de calor (Limpari CC400) para cerrar las bolsas y se almacenaron a 5 °C durante 16 días. El ensayo se realizó por duplicado y se utilizaron 30 tomates con un total de 120 rodajas distribuidas en 20 bandejas entre muestras tratadas y controles.

3.3 EFECTO DE LA ESENCIA SELECCIONADA SOBRE LA CALIDAD DE LAS RODAJAS DE TOMATE

Se utilizaron frutos de tomate de variedad Redondo los cuales fueron adquiridos en un comercio de la ciudad de La Plata. Se desecharon frutos con defectos en su estructura, de la misma manera que los que no presentaban la madurez apropiada.

Como se mencionó anteriormente en la sección 3.2 los tomates se lavaron en agua corriente, luego con agua clorada, se secaron, se cortaron en rodajas y se colocaron en bandejas que tenían una cinta de papel filtro impregnado con la esencia seleccionada de

romero al 30 uL. Se prepararon 36 bandejas con 6 rodajas de tomate cada una, utilizando un total de 54 tomates. Posteriormente se envasaron con film PD961 (Cryovac®) y se almacenaron a 5 °C por 0, 4, 8 y 12 días. En cada día de muestreo se retiraron 3 bandejas por tratamiento para evaluar distintos aspectos de la calidad en tejido fresco que se detallan en la sección 3. Con el fin de realizar ensayos posteriores se congeló muestra con N₂ líquido y se almacenó a -80 °C. El ensayo se realizó por triplicado.

3.4 PARAMETROS EVALUADOS

3.4.1 Índice de deterioro

En los distintos días de muestreo se utilizó un índice visual que discriminaba los diferentes tipos de deterioro que presentaron las rodajas de tomate preparadas como se indica en la sección 3.2. Es así que se estableció un índice que abarcaba presencia de hongos y bacterias, exudado, deshidratación y deterioro general en cada rodaja de tomate, para lo cual se empleó una escala de 1 a 5, siendo:

1= muy bueno, 2= bueno, 3= regular, 4= malo 5= muy malo

El índice de daño se calculó mediante la siguiente formulación:

$$\text{Índice de deterioro} = \frac{\sum \text{índice} * \text{N}^{\circ} \text{ de rodajas puntuadas}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de rodajas}}$$

3.4.2 Pérdida de peso

Para determinar este parámetro se pesaron las bandejas inmediatamente después de colocar las rodajas de tomate y antes de envasarlas con el film en el día 0. De la misma forma se pesaron las bandejas retirando el film a los días 4, 8 y 12 de almacenamiento. Los resultados se expresan como % de pérdida de peso con respecto al peso inicial y se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$\% \text{ PP} = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final})}{\text{peso inicial}} * 100$$

3.4.3 Actividad respiratoria

Se colocaron 6 rodajas de tomate en un frasco hermético de vidrio de 3000 mL durante 15 min a 5 °C, y mediante un sensor IR (ALNOR compu-flow, modelo 8650) se determinó la producción de CO₂, el ensayo se realizó por triplicado, y los resultados se expresaron como mL de CO₂ kg⁻¹h⁻¹ y se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Producción de CO}_2 = \frac{(\text{CO}_2(\text{F}) - \text{CO}_2(\text{I})) * (\text{V frasco})}{\frac{\text{W fruto}}{t}}$$

Donde: CO_{2(F)} y CO_{2(I)} son las concentraciones del gas al inicio y al final del período de 15 min, V es el volumen del frasco hermético, W es el peso del producto analizado y t es el tiempo transcurrido durante la medida (15 min). Se realizaron 3 medidas por tiempo de almacenamiento y tratamiento.

3.4.4 Color

Se utilizó un colorímetro (Minolta, Modelo CR-400), las medidas se tomaron entre lóculos de cada rodaja de tomate y se obtuvieron las medidas L*, a* y b* y con esto se calculó el ángulo Hue mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Hue} = \text{arc tg} \left(\frac{b^*}{a^*} \right)$$

Se realizaron 40 medidas por tiempo de almacenamiento y tratamiento.

3.4.5 Acidez, pH y sólidos solubles

Se trituraron 6 rodajas de tomate con una Minipimer (Braun MR400), se pesaron 10 g del triturado, se los colocó en un vaso de precipitado y se agregaron 200 mL de agua destilada. Empleando un peachímetro se tomó el pH inicial y se tituló la muestra con NaOH 0.1 N hasta llegar a pH 8.2 (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como porcentaje (% g de ácido cítrico cada 100 g de tejido).

Para la determinación de sólidos solubles se utilizó un refractómetro digital (HI 96801), en el cual se depositó una pequeña cantidad del triturado de tomate hasta cubrir el prisma,

el valor de sólidos solubles de cada muestra se reportó en la pantalla del refractómetro en °Bx.

Se trabajó por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

3.4.6 Textura

Para este análisis se utilizó un texturómetro (Texture Analyzer TA.XT, Stable Micro System Texture Technologies, Scarsdale, NY), provisto de una sonda plana de 3 mm de diámetro. Las rodajas fueron analizadas mediante un ensayo de penetración (4 mm) con una velocidad de 0.5 mm s^{-1} registrando la fuerza aplicada vs. distancia de ruptura. La ruptura se realizó en la zona radial del pericarpio, tomando 3 medidas por rodaja llegando a un total de 60 determinaciones del tratamiento y tiempo analizado.

Los resultados se expresaron como la deformación del tejido calculada en la pendiente de la curva (N s^{-1}).

3.4.7 Contenido de Fenoles Totales

Para la preparación del extracto a utilizar se congelaron las muestras en N_2 líquido, se trituraron con un molinillo y se pesaron 3 g para luego agregarle 10 mL de etanol 96 % v/v, se agitó por 1 min, y posteriormente se centrifugó la mezcla a 13.000 rpm en una centrífuga (Sorvall[®]) durante 10 min a 4°C . El sobrenadante resultante se recolectó y almacenó a -80°C para los análisis posteriores.

La determinación de fenoles totales se realizó según Singleton et al.,(1999) con algunas modificaciones, para ello se utilizaron 100 uL del extracto y se agregaron 50 uL de agua destilada, 50 uL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:1 con agua destilada). Se agitó y luego de 3 min se agregaron 100 mL de solución Na_2CO_3 20% en NaOH 0.1 N. La mezcla se llevó a 1500 uL con agua destilada y se incubó por 90 min. Se midió la absorbancia a 760 nm. en espectrofotómetro y se utilizó ácido clorogénico como estándar para la realización de la curva de calibración. Para cada día de almacenamiento y tratamiento, se realizaron dos moliendas y dos extractos de cada una, los cuales se cuantificaron por triplicado. Los resultados se expresaron como mg de ácido clorogénico por g de tejido.

3.4.8 Capacidad antioxidante empleando ABTS^{•+}

Para determinar la capacidad antioxidante mediante el reactivo ABTS^{•+} se prepararon 5 mL de solución acuosa de ABTS^{•+} 7 mM conteniendo K₂S₂O₈ 2.45mM y se la mantuvo en ausencia de luz de 12 a 16 h a temperatura ambiente. Previamente a realizar los análisis se mantuvo el reactivo en agitación y se diluyó con etanol hasta lograr una absorbancia de 0.7, estimándose una concentración de 2.45 mM.

El análisis se realizó con 20 uL de extracto preparado como se mencionó en la sección 2.2.4, y se agregó 1mL de reactivo ABTS^{•+}, se agitó y luego de 6 min se midió su absorbancia a 734 nm. Las muestras se analizaron por triplicado, y los resultados se expresaron como porcentaje de reducción de ABTS^{•+} por g de tejido.

3.4.9 Capacidad antioxidante empleando DPPH[•]

En este análisis se utilizó un extracto preparado como se mencionó en la sección 3.4.7 del cual se tomaron diferentes alícuotas (0, 25, 50, 75, y 100 uL), se agregó agua destilada hasta llegar a 250 uL en tubos a los que se les adicionó 1 mL de reactivo DPPH[•] (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) 40 mM preparado previamente en etanol. Se efectuó una cinética de consumo del radical estable DPPH[•] a lo largo del tiempo para lo cual se efectuaron las medidas de disminución de absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro (UV-Mini modelo 1240, Shimadzu Corporation, Japón) hasta los 60 min, tiempo al cual se alcanzó un plateau en la absorbancia. De igual forma se midió la absorbancia después de 60 min de reacción de la muestra que contenía solo etanol (blanco).

El porcentaje de DPPH[•] remanente a los 60 min fue graficado vs. el volumen de extracto agregado determinándose la cantidad de tejido óptima para reducir la concentración de DPPH[•] al 50 %, esto se definió como EC₅₀. Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante (EC₅₀⁻¹, g⁻¹) con la finalidad de llegar a una relación directamente proporcional: mayor valor numérico, mayor capacidad antioxidante. Los análisis se realizaron por triplicado.

3.4.10 Determinación de Acido Ascórbico

Para la determinación de vitamina C o ácido ascórbico se pesaron 5 gr de tejido de rodajas de tomate congeladas, se trituraron y añadieron a 6 mL de una solución acuosa de ácido cítrico al 3% p/v. La mezcla se agitó por 10 min en baño de hielo y protegido de

la luz, luego se centrifugó a $14.000 \times g$, 10 min y 4°C . El sobrenadante se separó y filtró a través de un filtro de $45 \mu\text{m}$ y fue analizado inmediatamente o congelado en N_2 líquido y conservado a -80°C hasta su análisis. Para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento ensayado se realizaron dos moliendas, efectuando dos extractos para cada una de las mismas. El extracto ya filtrado se analizó en un cromatógrafo HPLC Waters Model 6000A (Milford, MA, USA), acoplado a un detector UV-Visible. Se empleó una columna C18 ($5 \mu\text{m}$ de diámetro de partícula; $4,6 \text{ mm}$ de diámetro interno; 25 cm de longitud), usando como fase móvil, KH_2PO_4 $0,2 \text{ M}$, llevado a $\text{pH } 2,2$ con ácido ortofosfórico (H_3PO_4). Se usó un flujo de $0,8 \text{ mLmin}^{-1}$. La detección de AsA se realizó a 254 nm . Los resultados se expresaron como cantidad de Ácido Ascórbico $\text{mg por } 100 \text{ g}^{-1}$

3.4.11 Determinación de compuestos volátiles por cromatografía gaseosa.

Los compuestos volátiles presentes tanto en el aceite esencial (AE) de romero como en las rodajas de tomate y la atmósfera que rodea a las mismas en las bandejas controles y tratadas fueron analizados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa utilizando un CG (Agilent Technologies 7890 A) equipado con una columna HP-5 (30 m de longitud, $0,320 \text{ mm}$ de ID, $6,25 \mu\text{m}$ espesor de película) utilizando un detector de ionización de llama (FID). Las condiciones de corrida empleadas, consistieron: T° inyector: 240°C , T° detector: 280°C y T° horno que empleó el siguiente programa: 2 min a 40°C , con incrementos de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 100°C y $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 240°C con un tiempo total de corrida de 41 min . Se utilizó Helio como gas de corrida a flujo constante de 1 mL min^{-1} .

Para analizar el patrón de AE se inyectaron $2 \mu\text{L}$ de una mezcla de AE de romero diluido en diclorometano ($10 \mu\text{L}$ de AE en 25 mL finales de CH_2Cl_2). Por otro lado se inyectaron $500 \mu\text{L}$ de muestra gaseosa de la atmósfera que rodea las rodajas de tomate empacadas. Finalmente se analizó los volátiles presentes en las rodajas de tomate. En este último caso se trituraron y homogenizaron secciones de rodajas con una Minipimer (Braun MR 400), se pesaron 20 g del homogenizado, se colocaron en un vial de 60 mL cerrado herméticamente y con septum para luego ser calentadas en un baño termostático a 70°C durante 60 min . Posteriormente se tomaron $500 \mu\text{L}$ de muestra gaseosa o headspace para ser inyectados en el cromatógrafo. Los resultados se expresaron como porcentaje de área de cada compuesto respecto del compuesto mayoritario en el almacenamiento.

Con el fin de confirmar la identidad de los picos se efectuó un análisis empleando un CG HP 5890 Series II Plus, acoplado con un detector de espectrometría de masas HP 5972 equipado con una columna HP5-MS, (30 m x 0.25 mm x 5 μ m). Las condiciones de corrida fueron: T° de inyector: 200 °C, T° del horno: 5 min a 40 °C; 20 °C min⁻¹ hasta 250 °C; Gas de corrida: Hidrógeno, T° de interface: 300 °C; T° de fuente de iones: 280 °C; Presión en el espectrómetro de masas: 10⁻⁵ Torr; Energía de electrón: 70 eV.

3.4.12 Determinación de O₂ y CO₂ por cromatografía gaseosa

La composición de la atmósfera gaseosa dentro de los empaques que contenían las bandejas con rodajas de tomate se determinó y analizó mediante un cromatógrafo de gases (CG Agilent Technologies, modelo 7890 A) con una columna HP-Plot/Q (30 m x 0.530 mm ID, película de 40 μ m), usando Helio como gas de corrida con un flujo de 5 mL min⁻¹ y empleando un detector de conductividad térmica (TCD). Se trabajó con el inyector a 200 °C, detector a 230 °C y se utilizó un programa de calentamiento del horno de 4 min a 35 °C y 24 °Cmin⁻¹ hasta 155 °C, siendo el tiempo total de corrida de 9 min. Se inyectaron 200 μ L de muestra gaseosa. La atmósfera de los empaques fue analizada por triplicado, para todos los tiempos y tratamientos analizados. Se efectuó una curva de calibración de cada compuesto con sus respectivos patrones estándares. Los resultados se expresan como porcentaje de O₂ y CO₂ dentro de la atmósfera del empaque.

3.4.13 Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, hongos y levaduras

Se efectuaron recuentos en muestras control y tratadas en todos los días de muestreo. Para ello, las rodajas de tomate se procesaron con una Minipimer (Braun MR400), se pesaron 25 g del procesado, se colocaron y homogenizaron en 225 mL de agua peptona estéril 0.1 %.

Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas se realizaron diluciones por duplicado de 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, para el recuento del día 0, y diluciones de 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ para los recuentos de los días 4 en adelante. La dilución 10⁻¹ se sembró en profundidad colocando sobre la placa estéril la dilución correspondiente y luego el agar PCA a una temperatura de 30 °C aproximadamente, mientras que las diluciones sucesivas se sembraron en superficie adicionando el inóculo sobre el medio de cultivo PCA. Las placas se incubaron durante 2 días a 37 °C.

De la misma forma se efectuó el recuento de hongos y levaduras, en medio de cultivo YGC. Las placas sembradas se incubaron 5 días a 20 °C. Los resultados se expresaron como el log de unidades formadoras de colonias por g de tejido ($\log \text{ UFC g}^{-1}$). El análisis microbiológico se realizó tanto para muestras controles como para tratadas.

De estos recuentos se aislaron dos levaduras y un hongo para su identificación, y para comprobar el efecto de la inhibición fúngica con aceite esencial de romero.

3.4.14 Identificación de los microorganismos aislados de rodajas de tomate.

3.4.14.1 Hongo filamentoso

Del recuento microbiológico general se aisló una colonia de hongo filamentoso sembrando en triángulo (por punción con ansa de punta) en medio DRBC para luego incubar a 30 °C por 7 días. Una vez terminado este aislamiento se procedió a la clasificación morfológica de la colonia siguiendo la metodología propuesta por Pitt y Hocking (1999). Para ello se realizó por triplicado, cultivos de dicha colonia sembrando en tres puntos equidistantes en los medios Czapeck, G25N (Glicerol 25%) y Malta, los mismos se incubaron durante 7 días a 5, 25 y 37 °C. Durante el tiempo de incubación se analizaron los diámetros máximos alcanzados por cada colonia, color y textura, color de los pigmentos liberados al medio de cultivo y se observaron al microscopio las estructuras reproductivas. Para examinar el material fúngico se tomaron porciones de agar y se cubrieron con un portaobjetos, se sometieron al calor del mechero hasta aparecer las primeras burbujas, y con un cubre objetos se hizo una presión suave sobre el vidrio y se utilizó un microscopio LEITZ Laborlux 12® (LEITZ, Germany) con aumento de 400X para analizar la estructura de la hifa reproductiva y en 1000X para analizar la forma de los conidios.

3.4.14.2 Levaduras

Del recuento microbiológico general se tomaron las colonias presentes en cada placa y se realizó una tinción con Cristal Violeta fin de identificarlas, se realizó una observación microscópica mediante la cual se pudo conocer su estructura morfológica.

Para la identificación de las levaduras aisladas se utilizó el sistema API 20 C Aux de la empresa Bio Merieux (Francia). Cada galería API 20 C AUX contiene 20 cúpulas con sustratos carbonados deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Los sustratos son: D-glucosa (GLU), glicerol (GLY), 2-cetoglutarato (2KG), L-arabinosa (ARA),

D-xilosa (XYL), adonitol (ADO), xilitol (XLT), D-galactosa (GAL), inositol (INO), D-sorbitol (SOR), metil- α D-glucopiranosido (MDG), N-acetil-glucosamina (NAG), D-celobiosa (CEL), D-lactosa (LAC), D-maltosa (MAL), D-sacarosa (SAC), D-trehalosa (TRE), D-melezitosa (MLZ), D-rafinosa (RAF).

Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semisólido y las levaduras crecen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente, la galería permite identificar un total de 34 especies diferentes. Para realizar la siembra se partió de un cultivo de 24 hs de la levadura a identificar, se realizó una suspensión en 2 mL de solución salina al 0,85% p/v hasta obtener una turbidez igual a 2 de la escala de McFarland. Se transfirieron 100 μ L de esta suspensión a una ampolla de C Medium provisto por el fabricante y se homogeneizó evitando formación de burbujas, de esta suspensión se tomaron 150 μ L, se llenaron las cúpulas y se incubaron a 29 °C durante 48-72 horas.

La aparición de turbidez con respecto al testigo indica una reacción positiva que debe anotarse en la hoja de resultados en la cual los diferentes nutrientes están separados en grupos de tres y se adjudica a cada uno, en caso de ser positivo, un valor diferente: 1 para el primero, 2 para el segundo y 4 para el que ocupa el tercer lugar. Sumando cada triplete se obtiene un número de siete cifras que constituye el perfil numérico el mismo que servirá para la identificación mediante el Catálogo Analítico o el Programa Informático de Identificación suministrado por el fabricante.

3.4.15 Efecto antifúngico del aceite esencial de romero frente a microorganismos aislados.

3.4.15.1 Concentración de AE de romero constante (30 μ L)

Se procedió a preparar los microorganismos aislados de la siguiente manera:

-El hongo filamentoso, se inoculó con ansa redonda en agar papa dextrosa PDA (Merck, Alemania) inclinado durante 5 días a 30 °C. Después de la incubación se añadieron 10 mL de solución de esporas (0,01 % lauril sulfato de sodio, y 1% de glucosa) a los tubos. Los conidios se aflojaron raspando suavemente con un anza y se realizaron diluciones seriadas. A fin de determinar el número total de conidios se sembraron en superficie de agar malta (extracto de malta 1%, extracto de levadura 2% y agar agar 2%) 100 μ L de tres diluciones consecutivas, los cuales se homogenizaron con perlas estériles. Las cajas se

incubaron por 5 días a 30 °C y una vez terminada la incubación se procedió a hacer el recuento de conidios mL⁻¹. El número de conidios totales se corroboró mediante un recuento en cámara de Neubauer.

-Para la preparación del inóculo de levaduras, se siguió la misma metodología que en el hongo filamentoso pero empleando como medio de cultivo agar YGC® (BIOKAR, Beauvais, Francia) y agua de peptona (0,1% p/v) para las diluciones seriadas. Las cajas se incubaron por 48 h a 30 °C y una vez terminada la incubación se procedió a hacer el recuento de UFC mL⁻¹.

Para determinar la capacidad inhibitoria de los vapores de aceite esencial de romero 30 uL sobre el hongo filamentoso y las dos levaduras aisladas se procedió según se detalla a continuación. Se inocularon 100 uL de las diluciones que contenían recuentos del orden de 10³-10¹ UFC totales en superficie de cajas con agar malta para el hongo filamentoso e YGC para levaduras. Para someter dichas placas al efecto de los vapores de AE de romero se diseñó un sistema similar al que estaban expuestas las rodajas de tomate durante el almacenamiento descrito en la sección 3.2.2 y 3.2.3. Esto consistió en colocar las placas ya sembradas sobre las bandejas de telgopor rectangular conteniendo la cinta de papel de filtro embebida con 30 uL AE de romero y recubiertas con el film PD961. Se ensayó la posibilidad de que las placas sembradas estuvieran tapadas o no. Dicho sistema (placas en envase similar al empaqueo de las rodajas de tomate) se incubó durante 5 días a 30 °C en el caso del hongo y por 48 h a 30 °C para las levaduras para finalmente realizar el recuento por placa. Los ensayos se realizaron por duplicado y se los compararon frente a un control. Debido a que el efecto inhibitor del aceite esencial se determinó sobre las colonias y conidios que habían sido inoculadas en la caja, se reportó gráficamente el efecto inhibitor sobre el número de colonias totales por placa o caja de Petri.

3.4.15.2 Concentración de AE de romero variable

Se estudió el grado de respuesta e inhibición frente a diferentes concentraciones de AE de romero. A tal fin se empleó la misma metodología descrita en el punto anterior, es decir se aplicó un sistema análogo al empleado con las rodajas de tomate. Así se adhirió en las bandejas la cinta embebida con distintas cantidades de aceite esencial de romero (15, 30, 50, 100 uL), empleando como control el sistema sin presencia de aceite esencial. Para los estudios de inhibición se emplearon medios malta e YGC para los hongos

filamentosos y las levaduras, respectivamente. En la superficie de los medios de cultivo se inocularon 100 uL de una solución de 10^3 UFC mL⁻¹, que corresponden a un total de 10^2 conidios y 10^2 levaduras por placa. Las placas se envasaron con bolsas PD961 incubando a 30 °C durante 48 h o 5 días para las levaduras y los hongos filamentosos, respectivamente.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los experimentos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial. Los datos se analizaron por medio de un ANOVA con el software InfoStat y las medias se compararon con la prueba de LSD a fin de determinar las diferencias mínimas significativas a un nivel de significancia $\alpha=0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Selección del estado de madurez

Los alimentos mínimamente procesados que se ofrecen en el mercado como frutas y hortalizas deben ser organolépticamente aceptables e inocuos, es decir, presentar buena calidad, esta calidad percibida por el consumidor depende de algunas variables, las mismas determinan características sensoriales del producto logrando su aceptabilidad. Generalmente el consumidor prefiere alimentos que conserven sus características originales, desde el punto de vista nutricional como organoléptico.

Estas características de calidad se mide a través de distintos parámetros sensoriales, los cuales pueden ser visuales (color, forma, tamaño, brillo); olfatorios (aroma y olor); táctiles y auditivos (textura, firmeza) y gustativos (amargo, ácido, dulce o salado).

En el presente trabajo se utilizó observación visual de rodajas de tomate con distintos grados de madurez (**Figura 4-1**) con el fin de conocer el de mayor aceptabilidad para los consumidores.

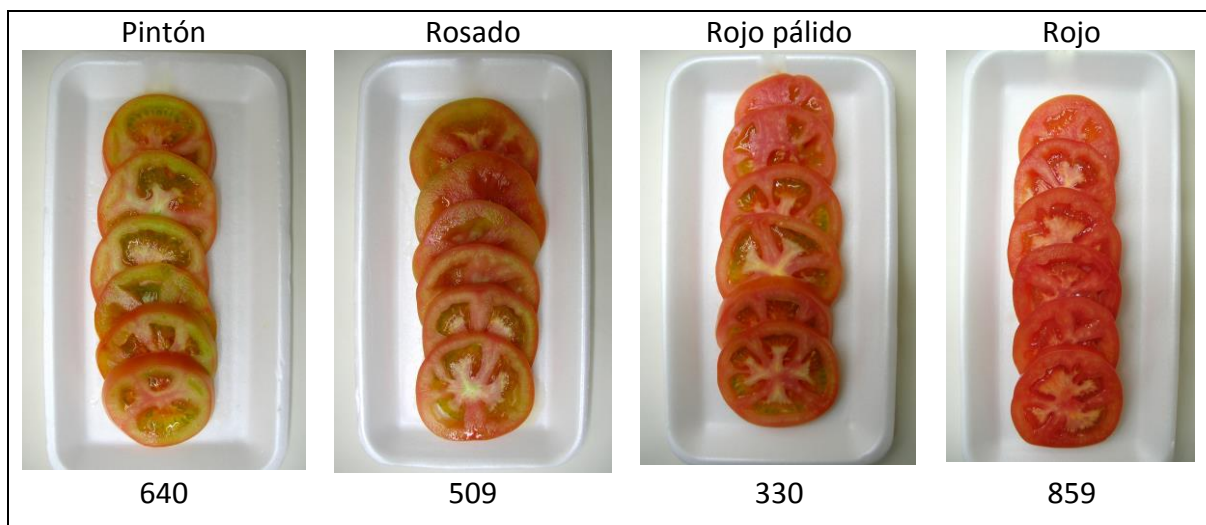


Figura 4-1: Muestras presentadas a los panelistas en una evaluación sensorial por atributos, se detallan el estado de madurez y el código de las muestras con tres números aleatorios

Se emplearon 70 evaluadores no entrenados (hombres y mujeres) en la evaluación sensorial, donde se pudo observar que tanto las mujeres (**Figura 4-2A**) como los hombres (**Figura 4-2B**) calificaron con mayor puntaje en los dos atributos evaluados, al estado de madurez rojo, y el menor puntaje al estado pintón. De igual manera se observa que las mujeres otorgaron puntaje similar a las muestras de estado rojo pálido y rojo, sin

embargo en el caso de los hombres se observó un puntaje creciente mientras aumenta el grado de madurez.

De esta manera el estado rojo pálido obtuvo mayor aceptabilidad sobre todo por parte de las mujeres, ventajosamente este estado de madurez permite un mayor tiempo de comercialización al presentar menor ablandamiento y menor ataque de microorganismos en comparación al estado de madurez rojo. Es por esto que se eligió el estadio rojo pálido para las posteriores evaluaciones.

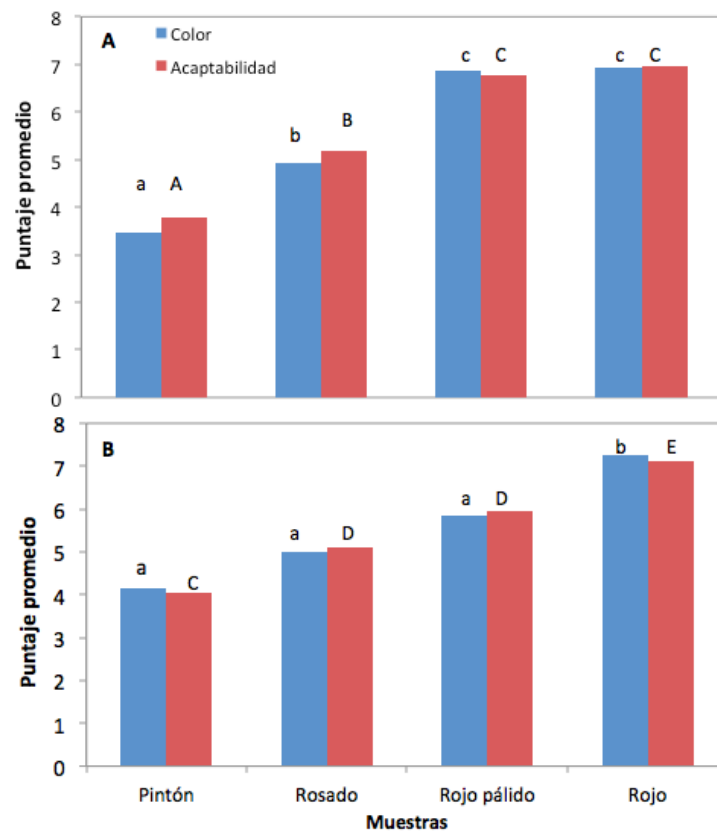


Figura 4-2: Valores promedios (escala 1 a 9) obtenidos por los atributos evaluados Color y Aceptabilidad general en rodajas de tomate de distintos estados de madurez (Pintón, Rosado, Rojo pálido y Rojo) otorgado por Mujeres (**A**) ($LSD_{Color}=0,88$ y $LSD_{Acept.}=0,89$) y Hombres (**B**) ($LSD_{Color}=0,95$ y $LSD_{Acept.}=0,95$) en un ensayo sensorial de aceptabilidad por atributos. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia 0,05. Minúsculas: estadística de Atributo color, Mayúsculas: estadística de Atributo Aceptabilidad General.

4.2 Selección de bandejas para presentación de producto

Los consumidores finales evalúan la calidad de frutas y hortalizas de la IV gama según diferentes parámetros como firmeza, apariencia, sabor, aroma e inocuidad del producto, pero sobre todo, para la mayoría, el motivo fundamental de la compra repetida de estos productos se rige fundamentalmente por la apariencia (visual) y presentación del producto (Kader,1992). Es por esto que una vez elegido el estadio de madurez, se realizó un análisis sensorial de ordenamiento por preferencia con diferentes tipos de bandejas para la presentación del producto (**Figura 4-3**).

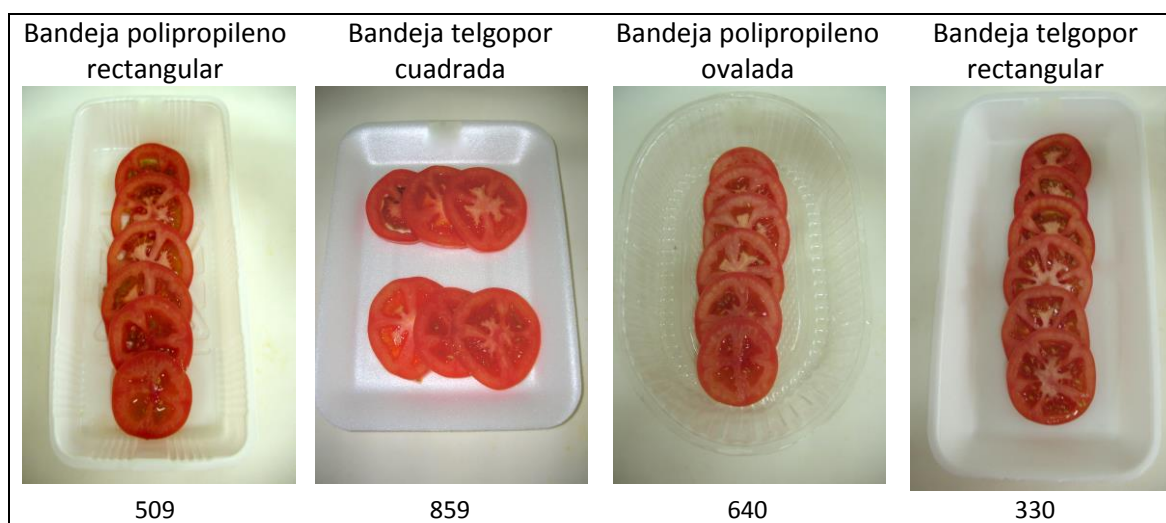


Figura 4-3: Muestras presentadas a los panelistas en una evaluación sensorial de ordenamiento por preferencia, se detallan el material y la forma de las bandejas y el código de las muestras compuesto por tres números aleatorios.

Las muestras fueron evaluadas por un panel de 72 consumidores no entrenados, donde se pudo observar que prefirieron tanto las bandejas de telgopor cuadrada y rectangular sin diferencia significativa entre ellas, mientras que las bandejas de polipropileno no fueron las preferidas por los consumidores (**Figura 4-4**).

De esta forma se eligió trabajar con bandejas de telgopor rectangulares puesto que su forma permitía un mejor manejo del producto durante el almacenamiento.

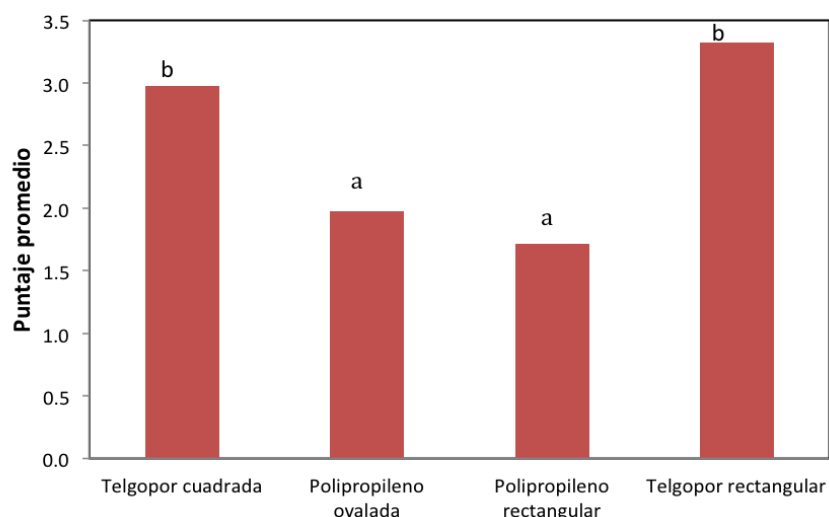


Figura 4-4: Puntaje según preferencia de las distintas bandejas y formas de presentación de las rodajas de tomate. 1= Gusta menos, 4= Gusta más. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia 0,05. (LSD= 0.95).

4.3 Selección de concentración y aceite esencial

Los componentes de los aceites esenciales han mostrado propiedades como antioxidantes y antimicrobianos naturales (Jang et al., 2007). Para evaluar esta propiedad en tomate fresco cortado, como primer paso se debió hallar la dosis que lograra retrasar en mayor magnitud el deterioro de las rodajas. Para esto se evaluaron aceites esenciales de romero y laurel con distintas concentraciones (0, 15, 30, 50 y 100 μL). Las cuales se impregnaron en un papel de filtro a un extremo lateral de las bandejas y se procedió como se indicara en las sección 3.2. Se evaluó la calidad al día 11 y 16 de almacenamiento a 5 °C con el fin de observar el grado de deterioro en las rodajas. Como se indicó anteriormente, para la elección del mejor tratamiento se calculó un índice de deterioro que califica el exudado, desarrollo microbiano, aceptabilidad, y por lo tanto, si las rodajas de tomates eran comercializables. En las rodajas que no fueron tratadas con aceite esencial se observó mayor crecimiento microbiano que se fue intensificando con el avance del almacenamiento, hallándose a los 16 días un desarrollo de colonias color blanco y circulares de aspecto pegajoso (**Figura 4-5 A**), también se observó un incremento en el desarrollo fúngico(**Figura4-5 B**).

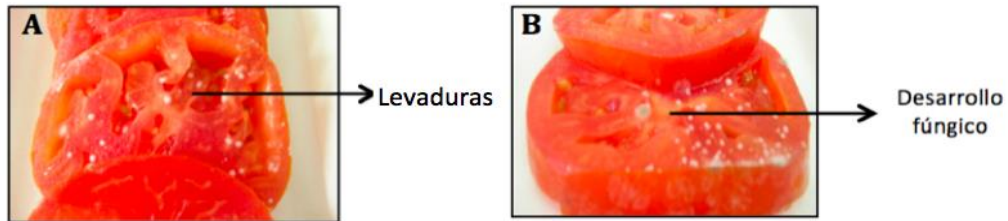


Figura 4-5: Apariencia de rodajas de tomate con levaduras **(A)**, y desarrollo fúngico **(B)** luego de 16 días.

Se cuantificó el avance del deterioro empleando un índice con una escala de 1 a 5 en orden ascendente de deterioro. Los valores 3 y 4 del índice utilizado fueron considerados como no comercializables, mientras que el índice 2 pertenecía a un puntaje con calidad relativamente baja pero aún comercializable. Las concentraciones de aceites esenciales de laurel y romero ensayados no mostraron mayores diferencias entre sí al día 11 de almacenamiento **(Figura 4-6)**. Si bien todas lograron un menor índice de deterioro respecto del control la concentración de romero 30 uL parecería ser la más efectiva. Si bien al día 16 de almacenamiento las muestras tratadas con aceite esencial de laurel en concentraciones de 30 uL y 100 uL mostraron diferencia significativa frente a la muestra control la efectividad no fue muy marcada en comparación con aceite esencial de romero. Por otro lado se observó una diferencia notable en el desarrollo microbiano con el resto de las rodajas tratadas y controles puesto que el aceite esencial de romero al 30 uL logró disminuir el índice de deterioro en las rodajas de tomate. Estos resultados permitieron elegir el aceite esencial de romero con una concentración de 30 uL para efectuar los ensayos posteriores.

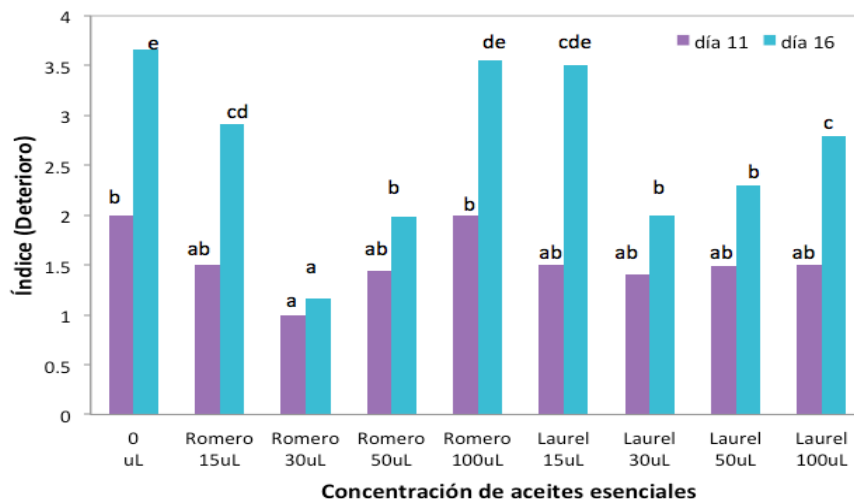


Figura 4-6: Efecto de los aceites esenciales de romero y laurel con diferentes concentraciones sobre el deterioro de rodajas de tomate almacenadas a 5 °C y evaluadas durante 11 y 16 días. Nivel 1= bueno, 2= regular, 3= malo, 4= muy malo. Letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 0,79).

En la **Figura 4-7** se muestra la apariencia de las rodajas de tomate control y tratadas con aceites esenciales de laurel y romero en concentraciones de 15, 30, 50, 100 uL almacenadas durante 16 días, en la cual se observa lo que se describió anteriormente, un mayor desarrollo microbiano en las rodajas controles respecto a las rodajas tratadas con aceite esencial, al igual que una mayor calidad del producto tratado con aceite esencial de romero 30 uL. Trabajos similares en vegetales y en productos cárnicos han comprobado que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se ve beneficiada junto con una baja temperatura de almacenamiento (Skandamis y Nychas, 2000). En general los vegetales tienen un bajo contenido de grasa lo que contribuye obtener resultados exitosos con los aceites esenciales (Burt., 2004). El empleo de aceite esencial de tomillo y de sus componentes que han sido probados en vegetales como lechuga y zanahorias baby, parecen ser eficaces frente a la flora natural que causa su deterioro en niveles de $0.1 - 10 \mu\text{L g}^{-1}$ en el agua de lavado (Wan et al., 1998; Singh et al., 2002). En ensaladas de berenjena (Skandamis y Nychas, 2000) se comprobó la efectividad del aceite esencial de orégano en concentraciones de $7 - 21 \mu\text{L g}^{-1}$ inhibiendo y reduciendo la población final de *Escherichia coli* O 157:H7. Estos tratamientos revelan que cada producto en particular respondió eficazmente a una concentración y tipo de aceite esencial que deben ser ensayados en cada caso.

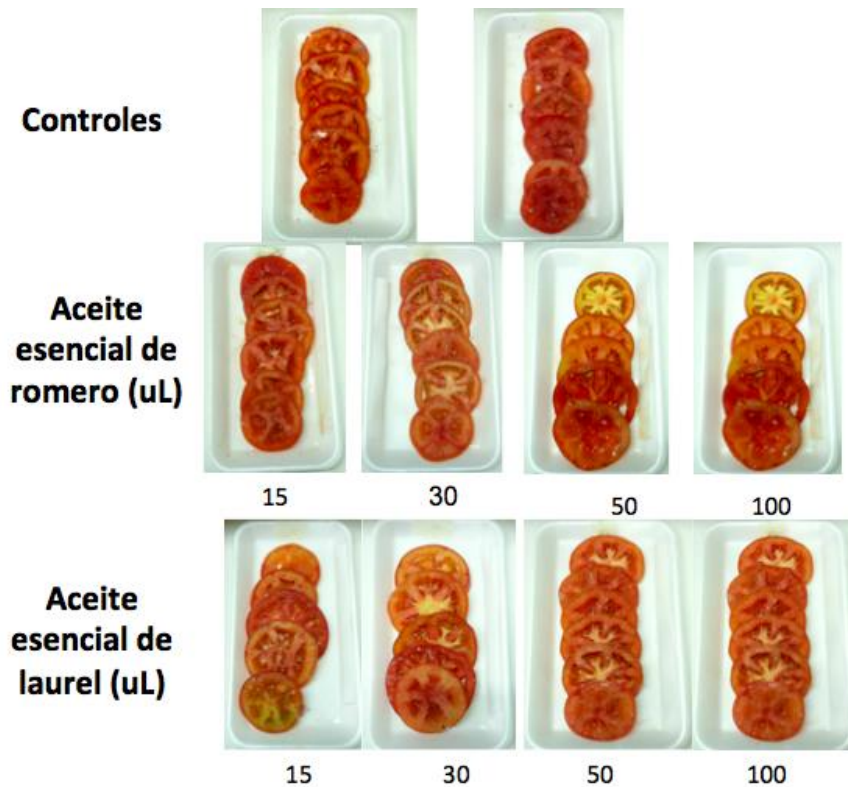


Figura 4-7: Apariencia de rodajas de tomate control y tratadas con aceites esenciales de romero y laurel (15, 30, 50, 100 uL) almacenados a 5 °C por 16 días.

4.4 Empleo de aceite esencial en tomates frescos cortados almacenados a 5 °C

Una vez seleccionado el aceite esencial de romero con una concentración de 30 uL se realizó un ensayo en el cual se evaluó el efecto del mismo sobre la calidad de las rodajas de tomate comparándolas con un control sin tratamiento durante 13 días. Donde se observaron características de deterioro iguales a las encontradas en el ensayo de selección de concentración y tipo de aceite esencial, estas características fueron: desarrollo de hongos y bacterias, exudado en bandejas, y deshidratación superficial en las rodajas como se muestra en la **Figura 4-8**.

El índice de deterioro aumentó de manera evidente en las rodajas controles. En cambio en las rodajas tratadas se observó menor exudado y mayor firmeza al tacto luego de 8 y 13 días de almacenamiento. Si bien en el almacenamiento a 5 °C el índice de deterioro fue mayor en las rodajas controles que en las tratadas, no se observó desarrollo de hongos y bacterias hasta los primeros 8 días de almacenamiento en ambas muestras, sin embargo luego de 13 días se observó desarrollo microbiano en ambos grupos, aunque

con menor porcentaje en las rodajas tratadas con aceite esencial (**Figura 4-9**). Estos resultados demuestran que el tratamiento con aceite esencial de romero 30 uL fue efectivo para reducir el desarrollo microbiano y para alargar la vida útil del tomate fresco cortado.

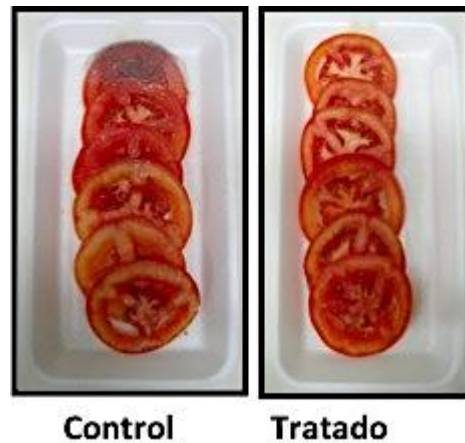


Figura 4-8: Apariencia de rodajas de tomate control y tratadas con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5 °C por 13 días.

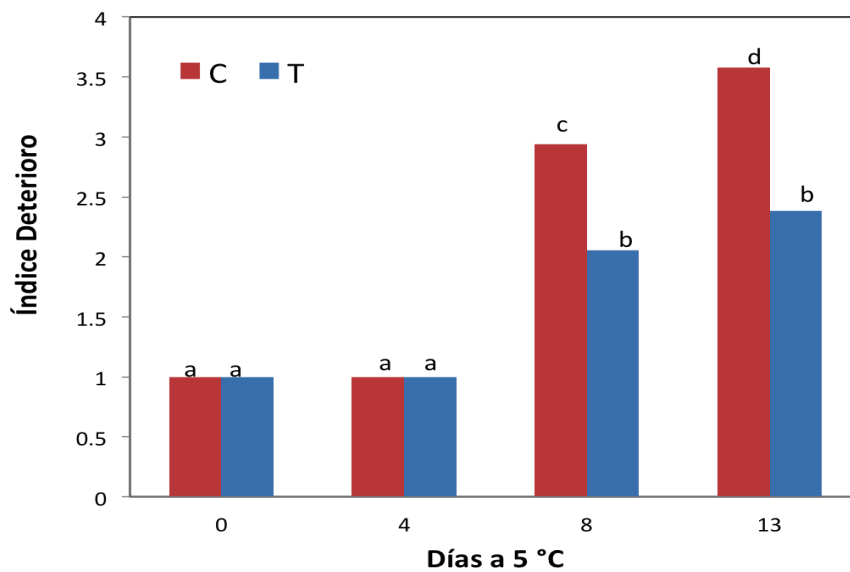


Figura 4-9: Índice de deterioro de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL durante el almacenamiento a 5 °C. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 0,34).

4.4.1 Firmeza

La calidad de la mayoría de las frutas y vegetales se ve influenciada por factores como las condiciones climáticas, la variedad, etapa de madurez y condiciones de almacenamiento.

Durante estos procesos la firmeza puede deteriorarse, originando un ablandamiento de la fruta lo cual no es deseado por el consumidor (Gómez et al, 1998). La firmeza es un atributo de calidad importante en la selección de frutas frescas, la comercialización de productos aceptables requiere de un control especial en los cambios de textura lo cual es fácil de aplicar conociendo los factores que influyen este atributo mediante el uso de tecnologías combinadas a la refrigeración, de esta forma Rodoni et al., (2010) lograron un retraso en el ablandamiento de tomate tratándolo con ozono. En la **Figura 4-10** se observa que en los primeros 4 días de almacenamiento no existieron diferencias entre muestras controles y tratadas, pero a partir del día 8 de almacenamiento las muestras tratadas se mantuvieron significativamente más firmes que los controles hasta el final del almacenamiento.

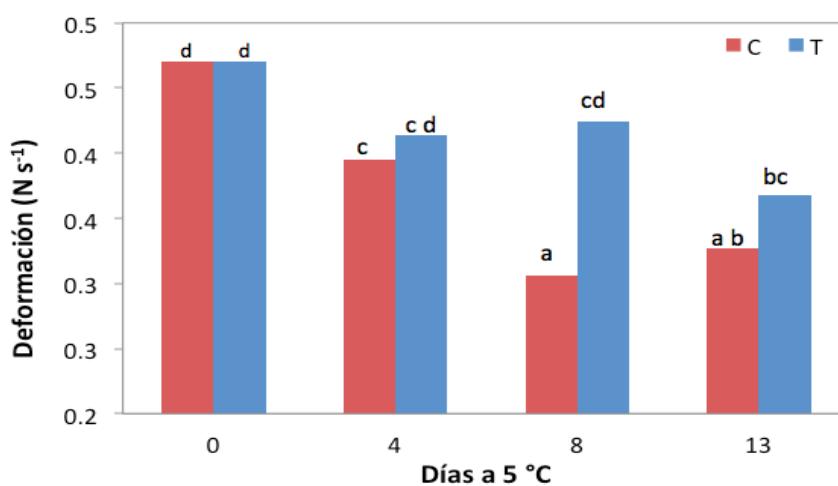


Figura 4-10: Firmeza en rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,064).

4.4.2 Pérdida de peso

La pérdida de peso se incrementó durante los 13 días de almacenamiento a 5 °C como se observa en la **Figura 4-11**, las muestras tratadas perdieron peso de forma más lenta que los controles, alcanzando un porcentaje de 1.4% de pérdida de peso frente a un 2.2% que presentaron las rodajas de tomate control, posiblemente el bajo porcentaje de pérdida de peso tanto en las rodajas control como en las tratadas podría deberse a la reducida permeabilidad del empaque utilizado. Es probable también que el menor deterioro por ataque microbiano contribuya a explicar la menor pérdida de peso en las rodajas tratadas. López-Rubira et al., (2007), reportó resultados similares en cuanto al porcentaje de

pérdida de peso en granadas tratadas con UV-C y almacenadas en atmósfera controlada. Otros estudios realizados en vegetales mínimamente procesados como pimiento reportaron porcentajes de 2.46% (Koide y Shi, 2007). Los diferentes porcentajes alcanzados en estos estudios se deben a variables como el tipo de producto, tiempo de almacenamiento y empaque utilizado durante el mismo.

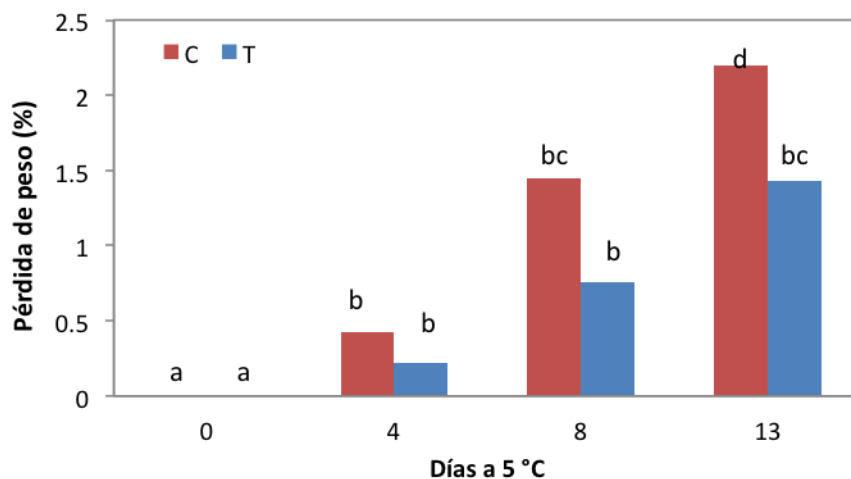


Figura 4-11: Pérdida de peso de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 μL , almacenados a 5 °C por 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,90).

4.4.3 Actividad respiratoria

La respiración es el proceso metabólico más significativo en la fisiología de frutas y vegetales, se basa en la degradación de sustancias presentes en las células como almidón, azúcares y ácidos orgánicos mediante oxidación de los mismos. Suslow y Cantwell (2000) reportan valores de actividad respiratoria entre 7 y 12 $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 10 °C en tomate entero, en la **Figura 4-12** se observó que la tasa respiratoria de las rodajas de tomate fue significativamente mayor a este valor desde el día inicial presentando valores de 16 - 34 $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ lo que probablemente se relacione con el daño ocasionado por el procesamiento mínimo que incrementa la actividad respiratoria. A los días 4 y 8 de almacenamiento las muestras tratadas presentaron un ligero aumento en la respiración lo cual puede deberse a una respuesta frente al tratamiento con aceite esencial hasta lograr mantener en equilibrio la atmósfera, sin embargo al día 13 de almacenamiento los valores de la tasa respiratoria fueron mayores en las rodajas controles que en las rodajas tratadas, alcanzando un nivel de 33.4 $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Esto se podría deber al mayor

deterioro y aparición de flora microbiana ya que puede ser que se perciba también la respiración de los microorganismos presentes.

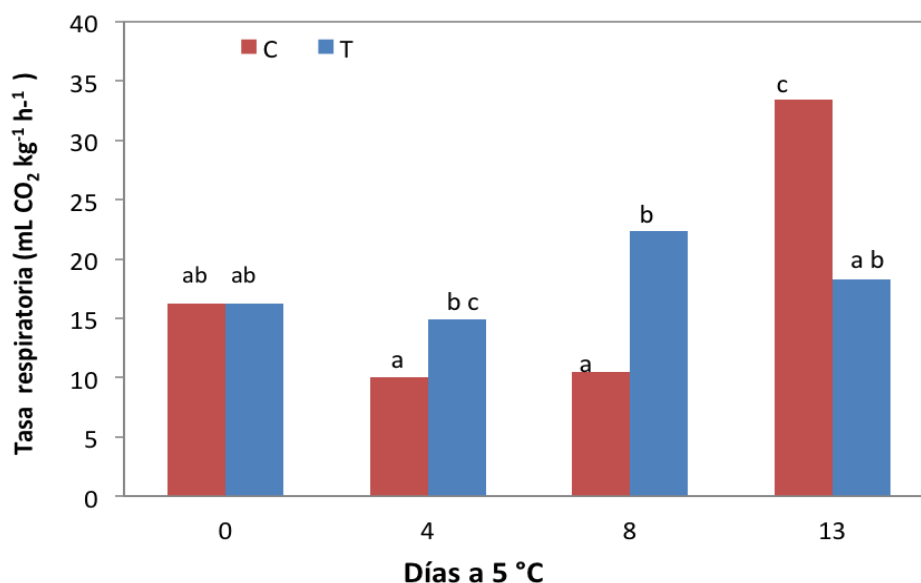


Figura 4-12: Tasa respiratoria de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD= 8,43).

4.4.4 Color

La valoración del color tiene especial importancia como parámetro de calidad en horticultura y se relaciona con la concentración de los distintos pigmentos de los tejidos vegetales (Jamal et al., 2004). Para la medición de color se utilizan escalas que dan una representación gráfica y numérica y definen parámetros que los describen, la escala más utilizada es la CIE-Lab (Computer Integrated Electronics Laboratory) que contempla los parámetros L*, a*, b* (**Figura 4-13**) y es un sistema tridimensional que comprende de tres planos o ejes. L* representa la iluminación o brillo del color y varía entre 0 (negro perfecto) a 100 (blanco perfecto), a* comprende la gama de colores verdes (valores negativos) y colores rojos (valores positivos), b* representa desde el color azul (valores negativos) hasta amarillos (valores positivos). En el centro se perciben los colores grises (acromatismo). A partir de estos valores se calcula el croma $(a^*+b^{*2})^{1/2}$ y Hue $(\text{tg}^{-1} b^*/a^*)$, los cuales representan la saturación y tonalidad, respectivamente. La variación de color en los tomates se pueden situar en el primer cuadrante ya que pueden estar entre los colores rojo (Hue= 0) a amarillo (Hue= 90).

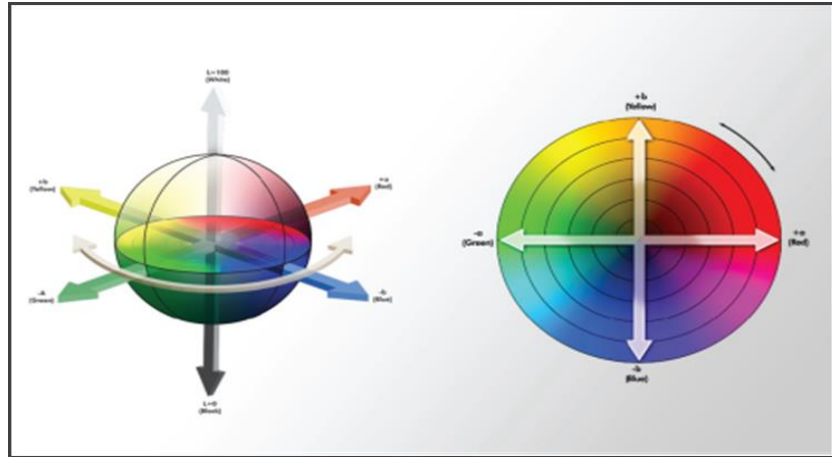


Figura 4-13: Representación del espacio de color según la escala CIE-Lab.

En la **Figura 4-14 A** se muestra la variación del parámetro L^* durante los 13 días de almacenamiento, donde podemos observar un ligero avance en la maduración tanto en las rodajas de tomate control y tratadas, presentando un incremento en los tonos rojos oscuros y la consecuente disminución de la luminosidad. De igual manera en la **Figura 4-14 B** se puede observar un avance en la maduración a través del parámetro Hue. Estos resultados demostrarían que el AE de romero no afecta la normal evolución de la maduración. Valores similares son reportados por Hernández (2013) donde observó que los parámetros L^* y Hue del tomate tienden a disminuir durante la conservación tanto a temperatura ambiente como en refrigeración, es decir que hay mayor formación de pigmentos rojos haciéndose más intenso y puro el color del tomate.

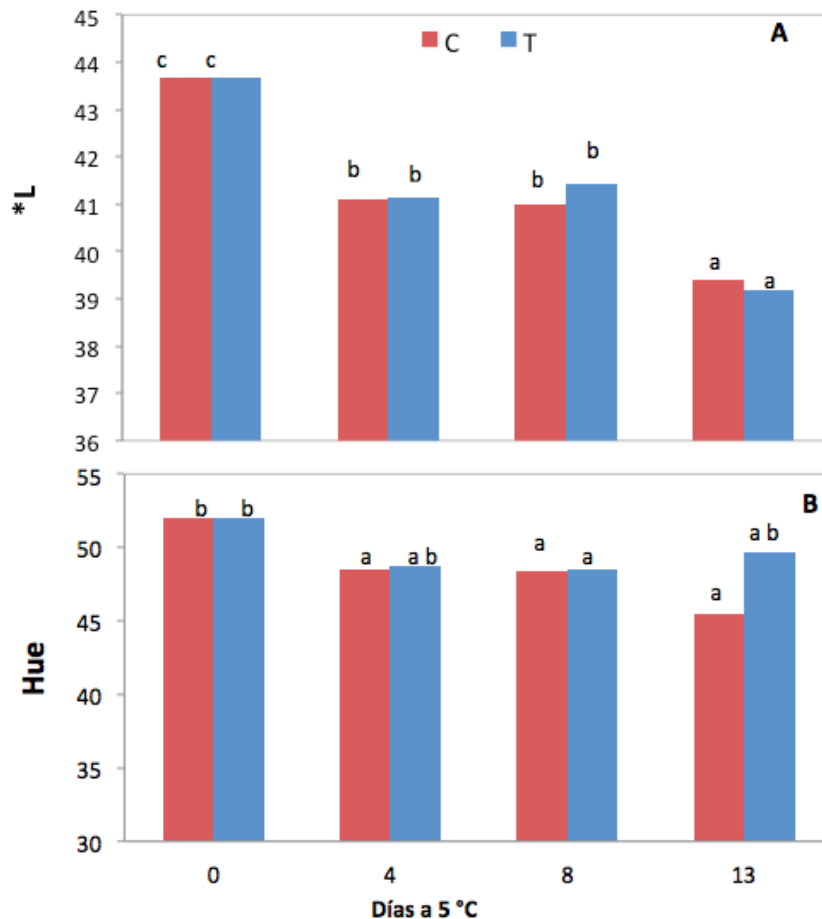


Figura 4-14: Variación de los parámetros de color: L^* o luminosidad (A) y Hue o tonalidad (B) en rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 μ L almacenados a 5°C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. ($LSD_{L^*}=1,53$ y $LSD_{Hue}=3,46$).

4.4.5 Acidez

La acidez es otro parámetro importante de calidad ya que influye en las características organolépticas del producto por lo tanto en la aceptación del consumidor. En el tomate la acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos siendo el ácido cítrico junto con el málico los mayoritarios representando el 13 % de materia seca. Con el fin de evitar errores en la medida se analizaron muestras completas de tomate, ya que la mayor acidez se encuentra en la zona locular del tomate.

El pH de la pulpa obtenida al triturar las rodajas control y tratadas osciló entre 4,3 y 4,2 (datos no mostrados), valores que coinciden con los estándares de calidad descritos por (Baldwin et al., 1998) en los que mencionan que para un buen sabor del tomate debe tener un pH entre 4 y 5. En la **Figura 4-15** se observa que al día 8 de almacenamiento

hubo un ligero aumento en el % de ácido cítrico para las muestras controles sin embargo este no fue significativo con respecto a las rodajas tratadas, al día 13 de almacenamiento se observó una disminución del mismo tanto para las rodajas controles como para las tratadas, pero llegando a ser comparable con los días anteriores de almacenamiento, los valores que se muestran en el presente trabajo se encuentran dentro del rango indicado por Cantwell (2004), quien señala que la acidez del tomate se ubica dentro del rango de 0,2 a 0,6%. Esto denota que el aceite esencial de romero no alteró la acidez en las rodajas de tomate.

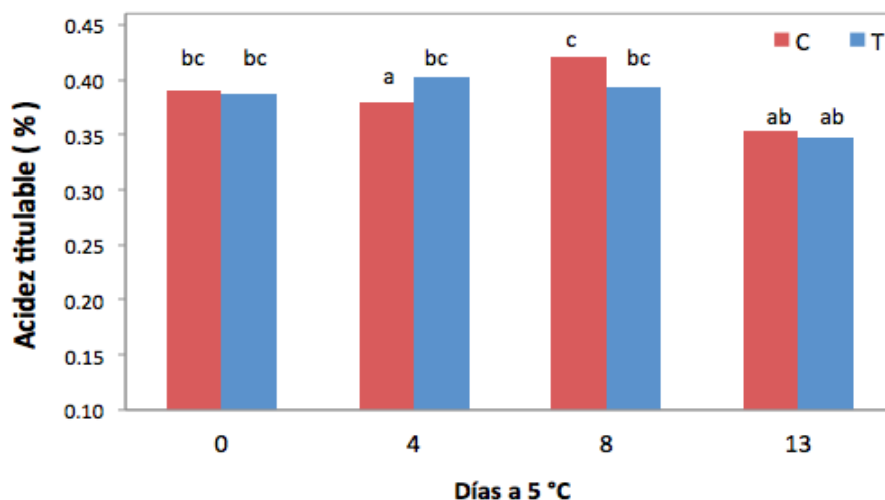


Figura 4-15: Acidez titulable porcentual de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,06).

4.4.6 Contenido de sólidos solubles

Las cualidades organolépticas están relacionadas con la composición química, Baldwin et al., (1998) consideran que la relación entre sólidos solubles y la acidez es un buen indicador para el sabor y el aroma de los tomates. En el presente trabajo el contenido de sólidos solubles no mostró diferencias significativas entre el producto control y el tratado como se observa en la **Figura 4-16** presentando un promedio de 4,2 y 4,3 °Bx en rodajas controles y tratadas respectivamente durante el almacenamiento. Aguayo y Artés., (2004) consideran que para tener un aroma y un sabor óptimos, los tomates deben tener un contenido en sólidos solubles de entre 4 y 6 °Bx lo cual indica que los valores obtenidos en el presente trabajo se encuentra dentro del rango de calidad descrito por estos

autores. Así también se observa que el tratamiento con aceite esencial de romero no provocó alteraciones indeseables en este atributo de calidad organoléptica.

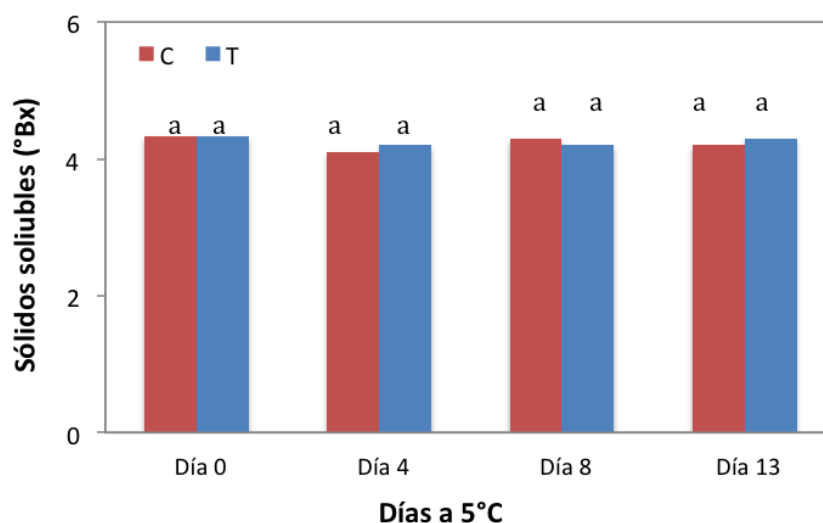


Figura 4-16: Sólidos solubles de rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,65).

4.4.7 Capacidad antioxidante

Los antioxidantes son compuestos que aumentan la velocidad de ruptura de radicales libres, impiden o retrasan la oxidación de otras moléculas a través de la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación.

El contenido de antioxidantes depende de diferentes variables que pueden ser genéticas o ambientales. Según Hart y Scott (1995) el contenido de antioxidantes de tomate depende de muchos factores, sobre todo de la variedad del fruto, la etapa de madurez y las condiciones de crecimiento. También influyen en el contenido de antioxidantes factores de postcosecha como daño mecánico, almacenamiento, y procesamiento.

En el presente trabajo se utilizaron dos métodos para la determinación de la capacidad antioxidante en las rodajas de tomate, estos métodos emplean radicales estables diferentes como DPPH• y ABTS⁺.

4.4.7.1 Empleo de radical estable DPPH•

Esta técnica utiliza el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), este radical es estable debido a la deslocalización por resonancia del electrón desapareado, el mismo genera una coloración violeta-púrpura caracterizada por una banda de absorción en solución etanólica centrada alrededor de 515 nm.(Molyneux, 2004). Cuando una disolución de DPPH• toma contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R•) se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la cual se observa el cambio de color y por lo tanto pérdida de absorbancia.

Los resultados de esta técnica se reportan como EC50 que es la concentración media inhibitoria, lo que quiere decir, la cantidad de extracto fresco que es capaz de consumir el 50% de DPPH•.

El tiempo que demanda esta reacción depende del tipo de compuestos fenólicos, ya que según lo definido por Brand-Williams et al., (1995) el ácido ascórbico, ácido isoascórbico e isoeugenol, reaccionan de manera casi inmediata, mientras que derivados de ácido benzoico o cinámico lo hacen al cabo de una hora.

Por lo tanto se deben estudiar las cinéticas de reacción de cada alimento a analizar. En el caso de las rodajas de tomate la cinética realizada inicialmente es rápida, siendo más lento el consumo de DPPH• luego de 10 min (**Figura 4-17**). Esto sugiere que el principal contribuyente al poder anti-radical de tomate es el ácido ascórbico.

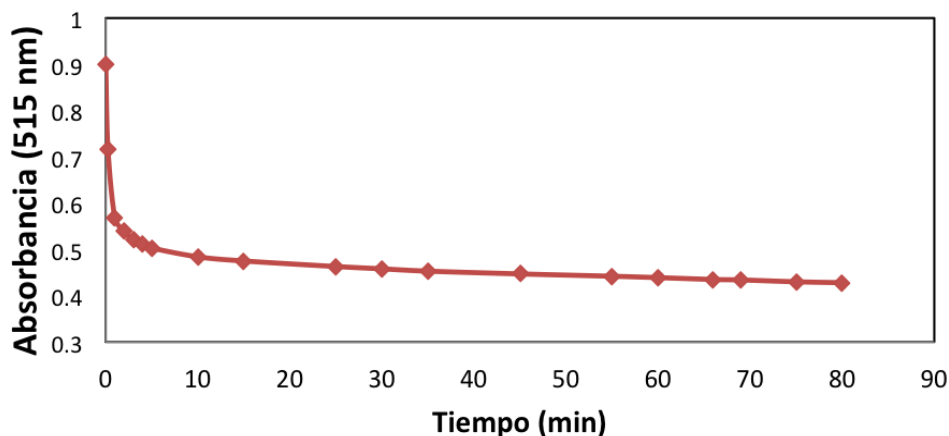


Figura 4-17: Cinética de la reacción de consumo entre el reactivo DPPH• por parte de un extracto de rodajas de tomate

En la **Figura 4-18** se observa la capacidad antioxidante de rodajas de tomate mediante la técnica del radical DPPH[•], la misma disminuyó al día 4, en las rodajas tratadas frente las rodajas control, sin embargo al día 8 de almacenamiento se mantuvo constante hasta el día 13 donde hubo una ligera disminución tanto en rodajas controles como en tratadas sin presentar diferencias significativas. Estos resultados indicarían que el tratamiento utilizado no afectó la capacidad antioxidante de las rodajas de tomate que disminuye lentamente durante el almacenamiento.

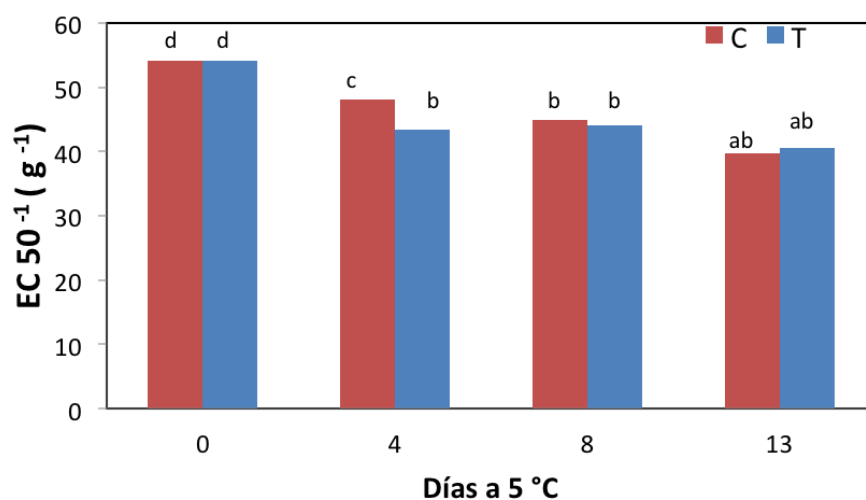


Figura 4-18: Poder antioxidante (EC_{50}^{-1}), medido con el radical DPPH[•], de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 μ L almacenadas a 5 °C durante 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=7,74).

4.4.7.2 Empleo de radical estable ABTS^{•+}

El empleo del radical ABTS^{•+} se fundamenta en la decoloración del catión-radical 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfonato (ABTS^{•+}). Este radical se genera mediante la adición de un agente oxidante como el persulfato de potasio, y presenta una absorción a 734 nm. El radical capta un protón y se produce la forma reducida, generando una decoloración del compuesto y pérdida de absorbancia.

En la **Figura 4-19** se observa que la capacidad antioxidante disminuyó ligeramente al día 4 de almacenamiento permaneciendo constante hasta el día 8, para luego disminuir al día 13 de almacenamiento. El perfil de cambios mostrados por la capacidad antioxidante medida con ABTS^{•+} fue prácticamente similar al mostrado por la capacidad antioxidante medida con DPPH[•].

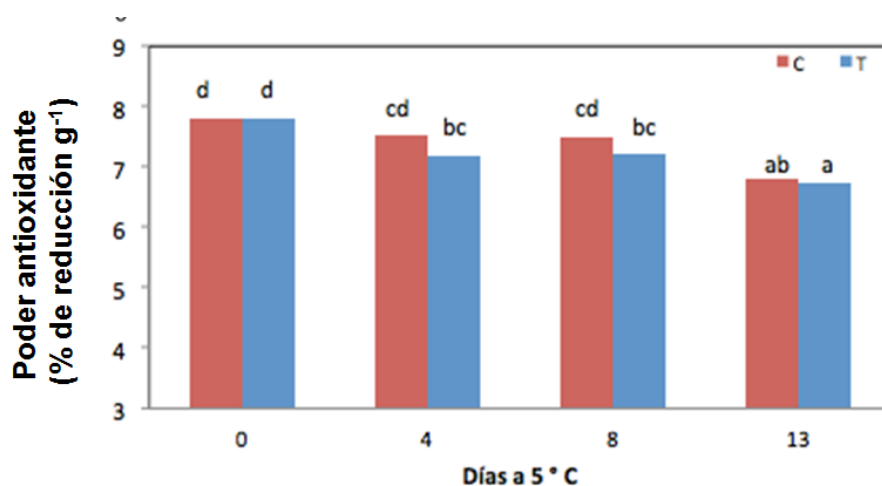


Figura 4-19: Poder antioxidante, medido con el radical ABTS⁺, de rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=0,27).

4.4.8 Contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química capaz de ejercer una acción antioxidante puesto que captan radicales libres neutralizando especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes. En el tomate se encuentran compuestos fenólicos como ácido clorogénico y cafeico en su mayoría, también están presentes ácidos cumárico y ferúlico (Nuez, 1995), y pueden encontrarse compuestos flavonoides como quercetina y naringenina (Chassy et al., 2006; Luthria et al., 2006). Estos compuestos se encuentran en mayor concentración en la piel del tomate. En el presente trabajo se utilizó el método que emplea reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999) para cuantificar compuestos fenólicos, el cual se basa en la reacción de los fenoles con agentes oxidantes ya que el reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico que reaccionan con antioxidantes fenólicos. A un pH básico los fenoles reducen el complejo fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos de color azul. A bajas concentraciones la absorbancia de estos compuestos es proporcional a la concentración de fenoles presentes en las muestras. En la **figura 4-20** se observa la recta de calibración con ácido clorogénico empleada para efectuar los cálculos de nuestros resultados.

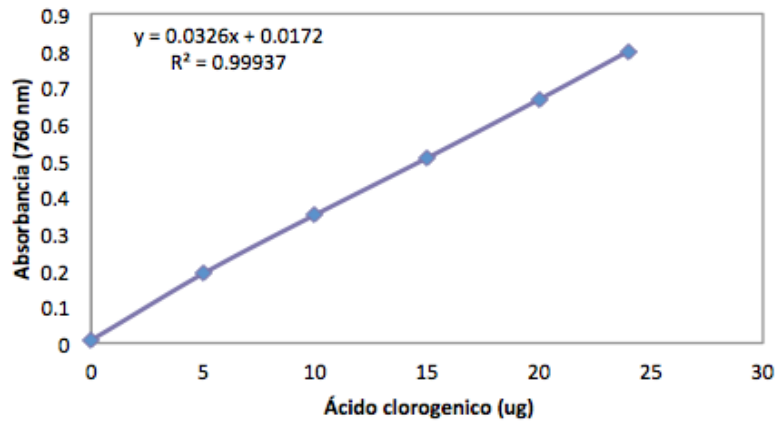


Figura 4-20: Recta de calibración realizada con ácido clorogénico para la determinación de compuestos fenólicos totales utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y midiendo la absorbancia a 760 nm.

Como se observa en la **Figura 4-21** el contenido de compuestos disminuyó a lo largo del almacenamiento en rodajas tratadas y controles, aunque los valores fueron un poco menor en las rodajas tratadas al día 4 y 8. Al día 13 de almacenamiento, el contenido de compuestos fenólicos disminuyó un 9% respecto del valor inicial y fue comparable en ambas muestras, Vallverdú et al. (2011) describen un comportamiento similar en tomates cortados en cubos sometidos a tratamiento de frío donde reportan la pérdida de fenoles totales en un 32% llegando a valores de 178 mg GAE/100 g materia seca, Vallverdú et al. (2011) al observaron una disminución progresiva y significativa de fenoles totales y actividad antioxidante en cubos de tomate comparados con tomates frescos. Esto se debe a que algunos antioxidantes lábiles pueden deteriorarse como resultado de procesos industriales (Dewanto et al, 2002), por lo tanto se puede decir que el aceite esencial de romero no alteró el contenido de compuestos fenólicos en las muestras tratadas.

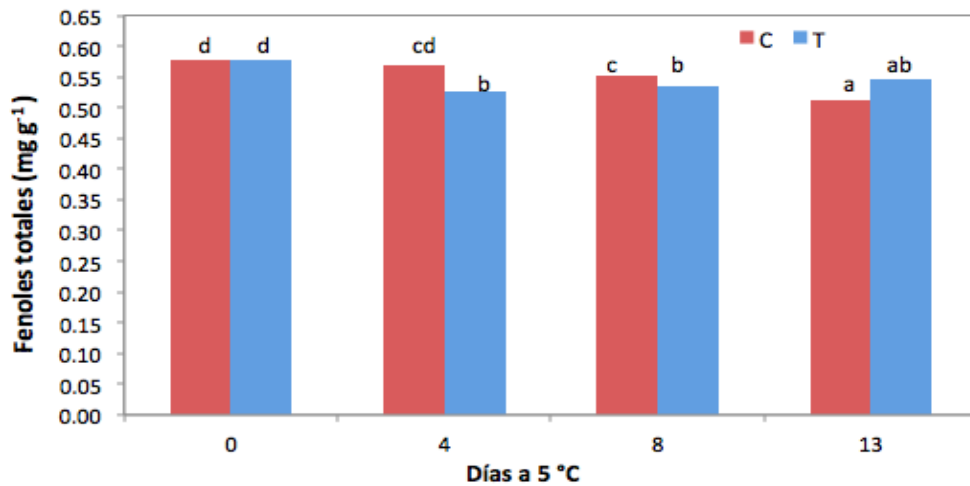


Figura 4-21: Fenoles totales en rodajas de tomate control (C) y tratados (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenados a 5 °C por 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD=00,22).

4.4.9 Determinación de Acido Ascórbico

Los principales antioxidantes hidrosolubles en frutos de tomate son el ácido ascórbico (AsA) y los compuestos fenólicos, es por esto que resulta necesario realizar la determinación del ácido ascórbico en las rodajas de tomate cortado durante el almacenamiento. En la **Figura 4-22** se observa que el contenido de AsA se mantuvo constante hasta los 8 días de almacenamiento siendo comparables con las muestras control. Al día 13 hubo una disminución significativa con respecto a los días anteriormente analizados, sin embargo el contenido de AsA en muestras tratadas fue similar a las muestras control. Esto indica que el empleo de aceite esencial de romero no alteró el contenido de AsA en rodajas de tomate.

Es de destacar que en otras frutas como el kiwi almacenado a 0 °C también disminuyó el contenido de AsA durante el almacenamiento.

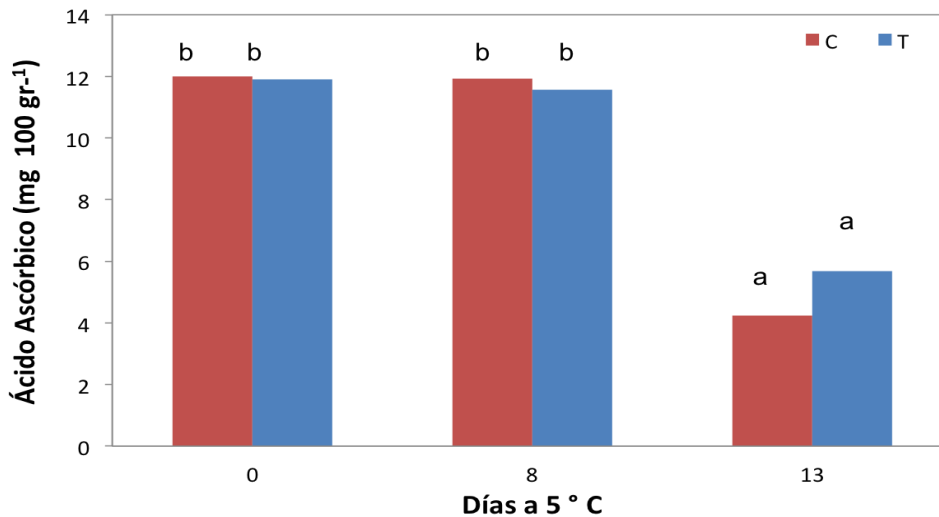


Figura 4-22: Contenido de ácido ascórbico (AsA) en rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD = 2,23).

4.4.10 Determinación de CO₂ y O₂ en atmósfera

El daño físico que sufren los productos mínimamente procesados provoca una respuesta fisiológica y bioquímica inmediata del fruto, la cual se manifiesta con la aceleración del metabolismo, generando incrementos en su actividad respiratoria e incremento de la transpiración. El control de estos efectos causados por el procesamiento puede ser reducido con enfriamiento de los frutos, es por esto que los alimentos mínimamente procesados deben ser conservados a temperaturas de refrigeración (Watada et al., 1998). Adicionalmente el envasado en atmósferas modificadas es una de las tecnologías aplicadas para la conservación y comercialización de frutas y verduras de la IV gama. Cuando el alimento es envasado en aire o en una mezcla de diferentes gases la atmósfera progresa como consecuencia de la respuesta fisiológica del fruto y de las características del material de envase hasta alcanzar un estado de equilibrio dinámico o estacionario (Jacxsens et al., 1999), generalmente la concentración de O₂ disminuye y la de CO₂ aumenta.

En este trabajo, al emplear el film PD 961 se creó una atmósfera modificada pasiva donde los niveles de O₂ y CO₂ logrados dentro del envase se analizaron a lo largo del almacenamiento mediante un cromatógrafo de gases. La identificación y cuantificación de los picos se efectuó con sus respectivos patrones. Se observaron los siguientes

tiempos de retención: O₂ a 2.77 min, N₂ a 2.7 min, y CO₂ a 8.6 min, según se detalla en el perfil cromatográfico (**Figura 4-23**).

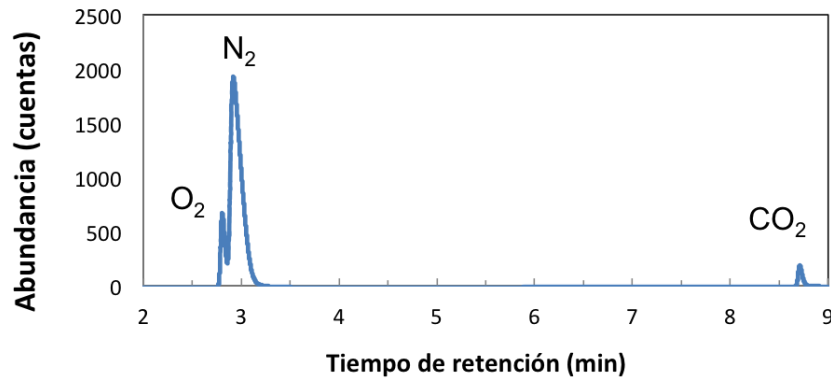


Figura 4-23: Perfil cromatográfico obtenido con patrones gaseosos. Los tiempos de retención son: O₂-2.77 min, N₂-2.7 min y CO₂-8.6 min.

En la **Figura 4-24** se observa los cambios en las concentraciones de O₂ y CO₂ dentro del empaque a lo largo del almacenamiento donde se aprecia que el contenido de O₂ fue mayor en el envase de rodajas tratadas frente al envase de rodajas controles, sin embargo al día 8 de almacenamiento el contenido de O₂ disminuyó ligeramente hasta llegar a la concentración de 17% tanto para las bandejas controles como tratadas.

De igual manera se observa que el contenido de CO₂ fue ligeramente mayor en la atmósfera de las rodajas controles que en la atmósfera de rodajas tratadas, siguiendo esta tendencia hasta el día 13 de almacenamiento donde el porcentaje de CO₂ corresponde a 2.3% y 2.0% en envases de rodajas controles y tratadas, respectivamente. Artés et., al (1999) obtuvieron resultados similares al analizar la calidad de tomate fresco cortado envasado en atmósfera modificada pasiva, donde reportaron una disminución de O₂ y un aumento en los niveles de CO₂ a 2 °C llegando a concentraciones de 14:6,5% de O₂ : CO₂.

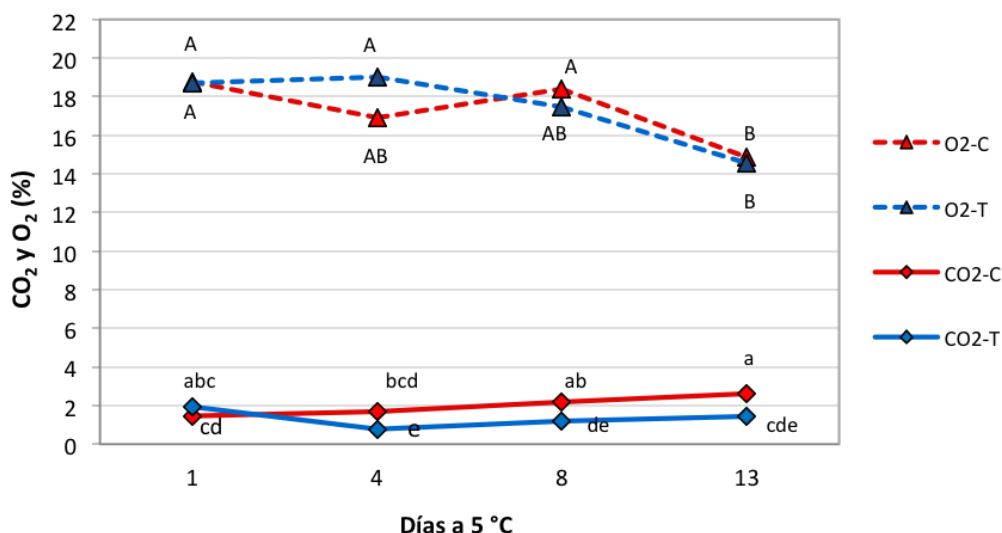


Figura 4-24: Cambios en los niveles de CO₂ y O₂ dentro de los empaques con rodajas de tomate control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL almacenadas a 5°C durante 13 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0.05. Se emplean letras mayúsculas para los resultados estadísticos de O₂ y minúsculas para los resultados estadísticos de CO₂ (LSD O₂ = 2.90, LSD CO₂=0.65)

4.4.11 Identificación de compuestos volátiles

4.4.11.1 Compuestos volátiles en el aceite esencial de romero.

Los aceites esenciales y varios extractos de plantas han provocado interés como fuentes de productos naturales, estos han sido estudiados por sus posibles usos como remedios alternativos para el tratamiento de muchas enfermedades infecciosas (Agunu et al., 2005). Particularmente la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos han sido fundamentales para su aplicación en conservación de alimentos crudos y procesados, productos farmacéuticos, medicina alternativa y terapias naturales (Friedman et al., 2002).

Es por esto que se han realizado diversos estudios sobre la composición química del aceite esencial de *R.officinalis*, en los cuales describen que la variabilidad en el tipo y contenido de los compuestos presentes en el aceite esencial están influenciados por factores extrínsecos como condiciones climáticas, tratamiento poscosecha y métodos de obtención del aceite (Al-Sereiti et al., 1999; Miguel et al., 2007).

En el presente trabajo se analizaron los compuestos volátiles, empleando un CG-FID, presentes en el aceite esencial de romero, el cual fue obtenido por arrastre de vapor. Se

obtuvo un cromatograma típico que se muestra en la **Figura 4-25**. La identidad de los picos mayoritarios fue comprobada mediante CG-MS y compuestos patrones.

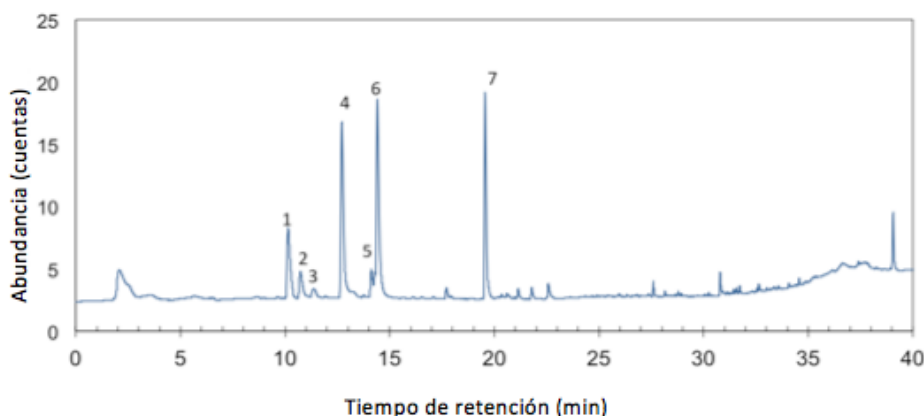


Figura 4-25:Perfil cromatográfico del aceite esencial de romero.

En el aceite esencial de romero se identificaron 7 picos mayoritarios, por lo que en adelante se consideraron como el 100% de los compuestos presentes en el AE al no considerarse los picos minoritarios detectados. Los picos se numeraron respectivamente según su tiempo de retención. En la **Tabla 4-1** se detalla el número de pico, nombre del compuesto y su cantidad relativa (%). Se aprecia que los compuestos presentes en más del 30% son el 6=1,8-cineol y el 4, el cual no pudo ser identificado pero se sospecha que puede ser β -pineno o Mirceno por el espectro de masa que presenta. También el L-canfor es importante alcanzando un 18% y finalmente el α - pineno con un 9.1% . Mientras que como compuestos con una menor concentración relativa se hallan: p-cimeno (4.37%), canfeno (3.40%) y un compuesto no identificado X1 (0.81%).

Tabla 4-1: Compuestos mayoritarios detectados por CG en el aceite esencial de romero, tiempos de retención (TR) y cantidad relativa (%).

Pico	Compuesto	TR (min)	%
1	α -pineno	10.1	9.13
2	Canfeno	10.7	3.40
3	X1	11.4	0.81
4	X2: β -pineno o Mirceno	12.7	33.10
5	p-cimeno	14.1	4.37
6	1,8-cineol	14.4	31.19
7	L-canfor	19.6	18.0
	TOTAL		100

Los aceites esenciales de romero típicos son ricos en α -pineno, 1,8-cineol y alcanfor, aunque también están asociados cantidades variables de otros compuestos como borneol y verbenona (Bradley,1992). Como se mencionó anteriormente las condiciones climáticas pueden afectar el contenido de los componentes de un aceite esencial (Yesil et al., 2007). El principal componente de aceites esenciales turcos, marroquíes e italianos es el 1,8-cineol, con más del 40% (Boutekedjiret, 1999; Bradley, 1992). Mientras que el aceite francés, español y griego tienen 1,8-cineol, α -pineno, y alcanfor con aproximadamente porciones iguales (20-30%) (Lawrence, 1995). Aceites esenciales de romero rico en mirceno sólo se han reportado en América del Sur, en Argentina (Mizrahi et al., 1991), Uruguay y Brasil (Dellacassa et al, 1999; Larrán et al, 2001.; Porte et al., 2000).Ojeda-Sana et al. (2012) analizaron dos variedades de aceite esencial de romero argentino donde identificaron que uno era rico en mirceno (31,1%) y el otro rico en α -pineno (31,2%), en estas variedades también identificaron compuestos importantes como 1,8-cineol (18,7-21,6%) y alcanfor(7,9-15,4%). Las diferencias en la composición química detectada en los dos fenotipos de romero argentinos cultivadas bajo las mismas condiciones desde hace más de 7 años se determinan principalmente por el genotipo de la plantas (Ojeda-Sana et al. 2012). Esto explica la diferencia en el contenido de ciertos compuestos presentes en el aceite esencial de romero. Estos resultados coinciden con los descritos en este trabajo ya que aquí se identificaron como compuestos mayoritarios 1,8-cineol y β -pineno o Mirceno y de concentración intermedia L-canfor y α -pineno.

4.4.11.2 Compuestos volátiles presentes en la atmósfera del envase y en el tejido de las rodajas de tomate

Como era de esperarse las muestras control no presentaron los compuestos volátiles de AE de romero(datos no mostrados). Mientras que, dichos compuestos volátiles se retienen dentro del envase del film PD 961 de muestras tratadas y son también adsorbidos por el tejido de tomate, por lo que se identificaron y cuantificaron durante el almacenamiento. En la **Figura 4-26** se observan los perfiles cromatográficos y el área relativa de los picos (%) presentes en la atmósfera del envase (**Figura 4-26 A y B**) y en el tejido de rodajas (**Figura 4-26 C y D**).

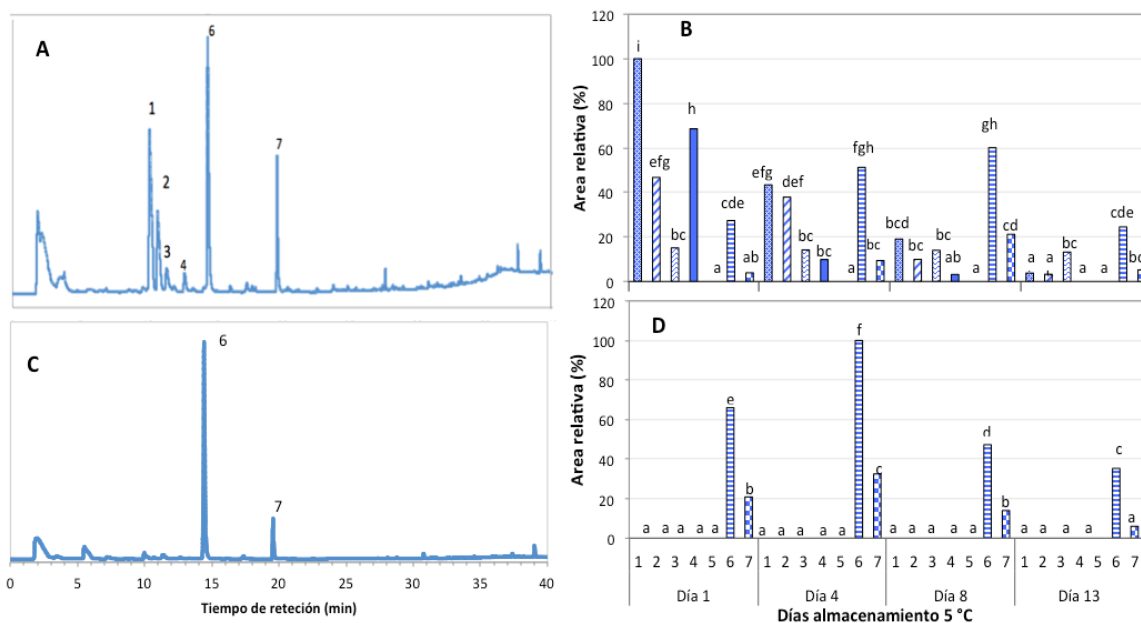


Figura 4-26: Compuestos volátiles analizados en la atmósfera del envase (**A y B**) y en rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero 30 μ L (**C y D**). Perfil cromatográfico (**A y C**) y área relativa porcentual de los picos (**B y D**) durante el almacenamiento a 5 °C.

En la atmósfera del envase se detectaron 6 picos, todos corresponden a los identificados en el aceite esencial de romero (**Figura 4-26 A**) aunque no se registró la presencia del compuesto 5= p-cimeno. En la **Figura 4-26 B** se observa que al día 1 el pico mayoritario es el 1= α -pineno, mientras que ya al día 4 y hasta el final del almacenamiento el compuesto mayoritario fue 6= 1,8-cineol. Los compuestos 1= α -pineno y 2= canfeno disminuyen a lo largo del almacenamiento hasta un valor retenido en la atmósfera de 3.8 y 3.3%, respectivamente. El pico 3=X1 se acumuló solo un 15.1% al día 1 y permaneció constante hasta el día 8 luego del cual disminuyó a la mitad. El pico 4= β -pineno o mirceno era el segundo en importancia al día 1 con un 68% pero disminuyó drásticamente al día 4 (9,9%) para terminar desapareciendo al día 13. Los compuestos 6= 1,8-cineol y 7= L-canfor fueron los minoritarios al día 1 aunque luego comenzaron a acumularse, el 1,8-cineol pasó a ser mayoritario a partir del día 4 (51.2%), aunque también al día 13 disminuyó su retención de manera similar al resto de los compuestos. En la **Figura 4-26 C** se observa el perfil cromatográfico de compuestos volátiles analizados en el tejido de las rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero donde sólo se acumulan el 6= 1,8-cineol y 7= L-canfor. En la **figura 4-26 D** se observa que estos

compuestos se adsorbieron en las rodajas de tomate desde el día 1, concentrándose en los días 4 y 8 de almacenamiento.

Los resultados demuestran que la concentración de todos los compuestos presentes disminuye al final del almacenamiento, sin embargo compuestos como 6= 1,8-cineol y 7= L-canfor son los únicos presentes durante todo el almacenamiento tanto en la atmósfera del envase como en las rodajas de tomate tratadas.

Varios autores (Angioni et al., 2004; Papachristos et al., 2004; Pintore et al., 2002; Sacchetti et al., 2005; Waliwitiya et al., 2005) reportaron resultados positivos en cuanto a la actividad antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica, antioxidante e insecticida del aceite esencial de romero en fase vapor, en su mayoría esta propiedad es atribuida a compuestos presentes en aceite esencial de romero como: 1,8-cineol, α -pineno, limoneno, canfeno y L-canfor. Por lo descrito anteriormente se puede decir que la presencia de 1,8-cineol y L-canfor durante el almacenamiento actuaron como preservantes o antimicrobianos, evidenciándose menor deterioro microbiano en las rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero. Sin embargo es difícil atribuir el efecto antimicrobiano de un aceite esencial solo a uno o unos pocos compuestos activos, porque en general contienen una mezcla de diferentes compuestos químicos mayoritarios (Ojeda et al. 2012) y componentes menores que pueden hacer una contribución significativa a la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero es el efecto sinérgico de sus componentes (Jiang et al., 2011).

Si bien al efectuar un tratamiento con AE se coloca una concentración determinada sus componentes volátiles pueden, como ya se mencionó, retenerse en la atmósfera del envase o en el propio tejido; también pueden quedar retenidos en el soporte del papel de filtro, o perderse por ser permeables al film o barrera empleado, PD 961 en nuestro caso, por lo que nos podríamos preguntar qué porcentaje efectivo de compuestos fueron los que ejercieron el efecto antimicrobiano y de mejora de la calidad integral de las rodajas de tomate. En la **Figura 4-27** se muestra el conjunto de los compuestos volátiles presentes en atmósfera del envase y en el tejido del tomate. Se puede observar que, respecto al total de compuestos sembrados sobre el papel de filtro al inicio del almacenamiento, sólo un 4,2% de los compuestos volátiles se acumulan al día 1 y disminuyen progresivamente hasta alcanzar valores cercanos al 1% al día 13. En particular

en la atmósfera del envase se concentran al día 1 y disminuyen luego mientras que en el tejido de tomate se acumulan hasta el día 4 (2%) y recién luego disminuyen.

Estos resultados estarían mostrando que con una muy baja proporción de AE retenida se logran efectos beneficiosos en las rodajas de tomate fresco cortado.

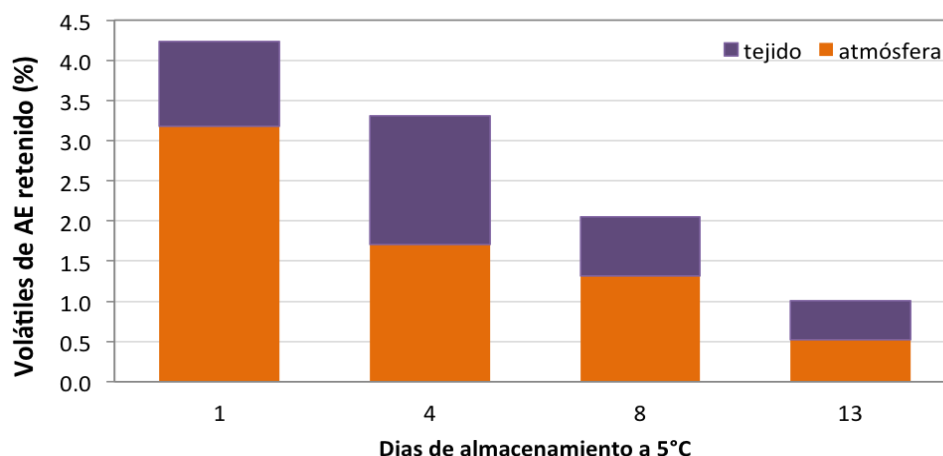


Figura 4-27: Porcentaje de compuestos volátiles retenidos en atmósfera del envase y en tejido de rodajas de tomate tratadas con aceite esencial de romero 30 uL durante el almacenamiento a 5 °C.

4.4.12 Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, hongos y levaduras

Los productos de la IV gama son más susceptibles a sufrir desarrollo microbiano sobre todo en la línea de corte, puesto que las células son dañadas eliminando barreras naturales y liberando nutrientes que promueven el crecimiento de la flora bacteriana.

La determinación de los recuentos de hongos, levaduras y bacterias aerobias mesófilas, está vinculado con el efecto que tienen los microorganismos deteriorantes sobre la calidad del producto.

En la **Figura 4-28 A** se observa que el desarrollo de bacterias muestra un incremento desde el día 4 de almacenamiento llegando a 4,8 y 5 log UFC g⁻¹ para las rodajas de tomate tratado y control, respectivamente. Si bien este incremento se mantiene durante el almacenamiento los valores hallados son significativamente menores en rodajas tratadas.

El desarrollo de hongos y levaduras (**Figura 4-28 B**) fue progresando a lo largo del almacenamiento tanto en rodajas controles como en tratadas. Si bien las diferencias entre tomate control y tratado fueron menores a las observadas para el desarrollo

bacteriano fueron estadísticamente diferentes registrándose a partir del día 4 un menor desarrollo en rodajas de tomate tratadas con 30 uL de aceite esencial de romero hasta el día 13 de almacenamiento. Esto podría deberse que a consecuencia del tratamiento con aceite esencial de romero los microorganismos se vieron afectados disminuyendo su capacidad de reproducción.

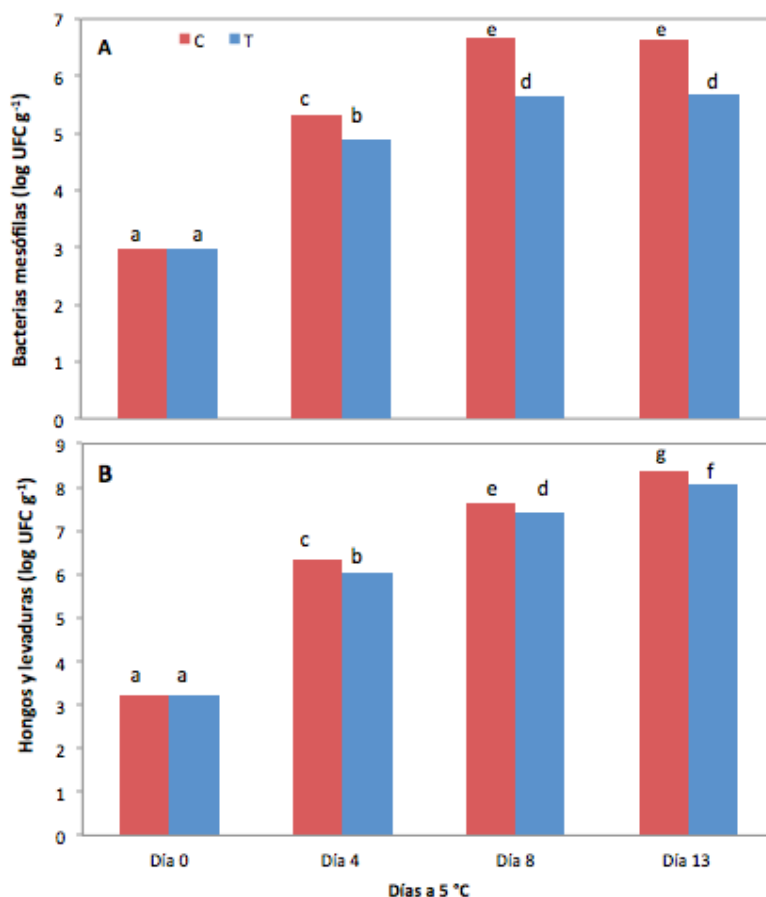


Figura 4-28: Recuento de bacterias aerobias mesófilas (A) y hongos y levaduras (B) durante el almacenamiento a 5 °C de rodajas de tomates control (C) y tratadas (T) con aceite esencial de romero 30 uL. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. ($LSD_{Bact.}=0,23$ y $LSD_{H y L}=0,21$).

4.4.13 Inhibición *in vitro* con cepas aisladas de rodajas de tomate frente al aceite esencial de romero.

En el presente trabajo se aislaron 2 cepas diferentes de microorganismos presentes en forma de colonias circulares (colonias 1 y 2), y un hongo filamentoso (Figura 4-29) obtenidos durante el recuento microbiológico de las rodajas de tomate, con el objetivo

de comenzar el proceso de identificación de los mismos y determinar la capacidad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de romero.

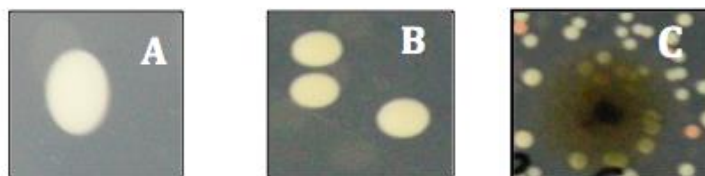


Figura 4-29: Colonias 1 (A) y 2 (B), y hongo filamentoso (C) aislados de rodajas de tomate.

Para identificar morfológicamente los aislados (colonias 1 y 2) se realizó una observación microscópica mediante tinción con Cristal violeta confirmando que ambas colonias correspondían a dos tipos diferentes de levaduras (**Figura 4-30 A y B**).

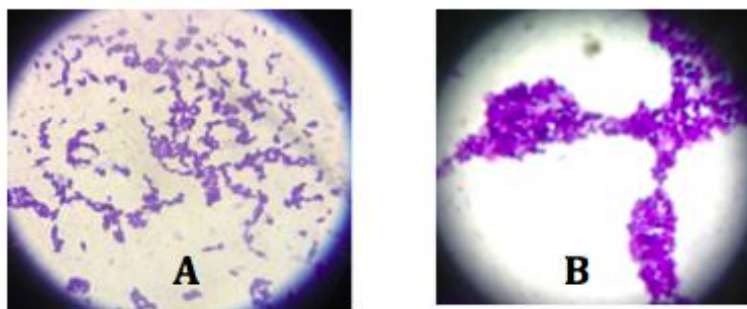


Figura 4-30: Observación microscópica de levadura 1 (A) y levadura 2 (B) aisladas de rodajas de tomate. Aumento 1000 X.

4.4.14 Identificación morfológica de los microorganismos

4.4.14.1 Hongo filamentoso

De los recuentos iniciales se aisló una colonia de hongo filamentoso en medio DRBC, la cual presentó las siguientes características: Colonia aterciopelada, color azul oscuro. Observación microscópica de hifas septadas y cabeza aspergilar.

Posteriormente el hongo filamentoso se identificó morfológicamente según Pitt y Hocking (1999). Éste se cultivó en medios malta, G25N y Czapek a 5, 25 y 37 °C, durante siete días y se analizó si hubo o no crecimiento midiendo el tamaño máximo de la colonia a distintos tiempos. No se observó crecimiento fúngico a 5 °C hasta los 7 días en ninguno de los medios analizados (**Tabla 4-2**). Sin embargo, a 25 y 37 °C tuvo lugar un crecimiento

progresivo conforme avanzaba el tiempo en los medios malta y Czapeck, mientras que no se registró crecimiento en el medio G25N a ninguna temperatura.

Tabla 4-2: Diámetro de crecimiento (mm) del hongo filamentoso cultivado a 5, 25 y 37°C en distintos medios por 24, 48, 72 h y 7 días.

Temp. de incubación	Medio de cultivo	Tiempo de incubación			
		24 h	48 h	72 h	7 días
5 °C	Malta	0	0	0	0
	Czapeck	0	0	0	0
	G25N	0	0	0	0
25 °C	Malta	1	11	25	60
	Czapeck	1	10	21	55
	G25N	0	0	0	0
37 °C	Malta	9	35	47	90
	Czapeck	8	35	55	90
	G25N	0	0	0	0

Se pudo observar el crecimiento del hongo filamentoso aislado, tanto en el anverso como reverso de la placa de Petri, en los medios de cultivo Czapeck (**Figura 4-31 A y B**) y malta (**Figura 4-31 C y D**) y sus características.

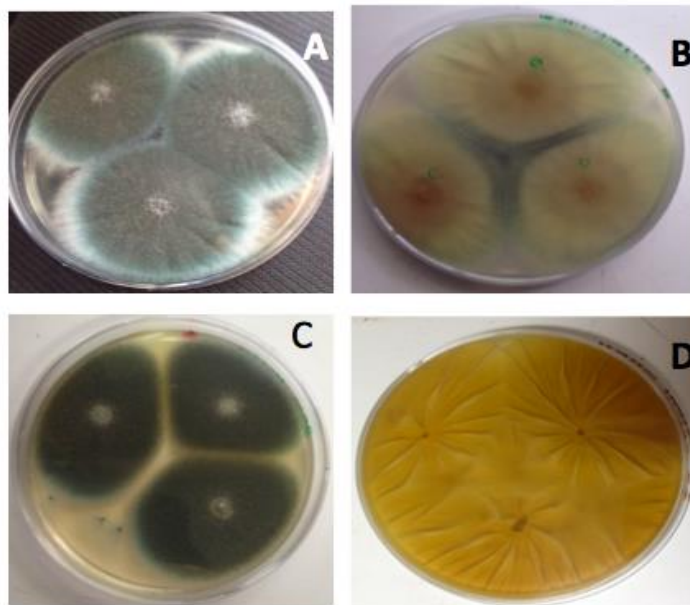


Figura 4-31: Crecimiento al cabo de 7 días de incubación a 30 °C del hongo filamentoso aislado de rodajas de tomate en medios de cultivo Czapeck: anverso (**A**) y reverso (**B**) y Malta: anverso(**C**) y reverso (**D**).

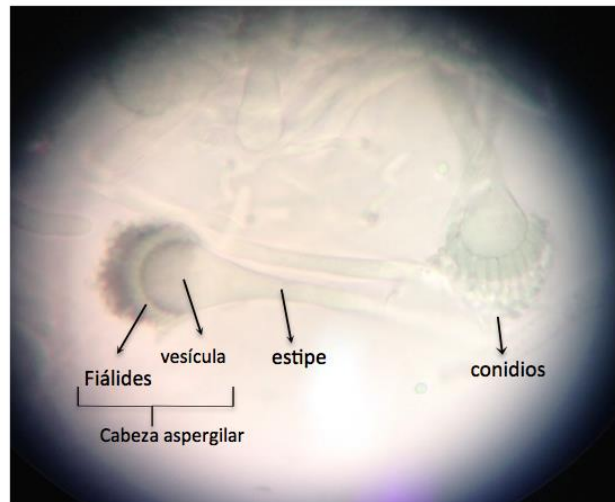


Figura 4-32: Vista microscópica de la hifa fértil del hongo filamentoso aislado de rodajas de tomate, donde se puede apreciar la cabeza aspergilar, estipe, la vesícula, las fiálides y algunos conidios. Aumento 1000 X.

En estos medios se observa que el hongo presenta un micelio de textura aterciopelada, tanto en el anverso como el reverso, de color azul oscuro, siendo un poco más claro el obtenido en Czapeck. En cuanto a la observación microscópica de la hifa fértil (**Figura 4-32**), se puede apreciar la cabeza aspergilar, parte del estipe, la vesícula y las fiálides. Todo lo descrito anteriormente permitió completar los análisis de identificación morfológica del hongo empleando la clave taxonómica propuesta por Pitt y Hocking (1999). Es así que llegamos a identificar que este hongo sería del género *Aspergillus* perteneciente a los *Hyphomycetes* dado que presenta las características descritas en la bibliografía mencionada: a) forma estipes grandes de paredes gruesas y ápices hinchados llamados vesículas. Éstas usualmente son esféricas pero pueden ser elongadas; b) Las vesículas sostienen fiálides o métulas y fiálides, las cuales usualmente aparecen simultáneamente. Este carácter lo diferencia de *Penicillium* donde siempre es sucesiva, es decir fiálides en distinto grado de desarrollo; c) Los estipes se forman a partir de una célula pie (no todos lo tienen) y generalmente no son septados, de modo que vesícula, estipe y célula pie forman una gran célula única.

Posteriormente, según la clave para el género *Aspergillus*, se siguió el siguiente análisis:

1 -Colonias en CYA a 25 °C – 37 °C mayores a 35 mm: **Coincide con el hongo aislado** (pasa a 2).

2- (1) Colonias negras o grises: **No coincide con el hongo aislado**

Colonias blancas o coloreadas: **Coincide con el hongo aislado** (pasar a 5)

5- Colonias blancas o coloreadas:

(2)Colonias blancas: **No coincide con el hongo aislado**

Colonias coloreadas: **Coincide con el hongo aislado** (pasar a 6)

6- (5) Colonias azules: **Coincide con el hongo aislado: *Aspergillus fumigatus***

Colonias amarillas verdes, o marrón: (pasar a 7)

*Números en paréntesis indican de la clave que proviene.

A partir de este análisis se concluyó que el hongo filamentoso aislado de tomate sería: ***Aspergillus fumigatus***.

4.4.14.2 Levaduras

Para la identificación de levaduras se utilizó el sistema API 20 C Aux Bio Merieux (Francia) (Land *et al.*, 1979).Luego de inocular las cúpulas, la galería (**Figura 4-33**) se incubó a 30 °C por 72 h. La reacción se consideró positiva cuando había turbidez en las cúpulas para los sustratos detallados en la **Tabla4-3**. Para el caso de la levadura 2, el sistema de identificación API 20 C Aux presentó dificultad para leer la turbidez en las cúpulas de crecimiento, siendo este problema ya detectado en la bibliografía (Verweij *et al.*, 1999). Por lo tanto se utilizó como ayuda una lupa óptica.

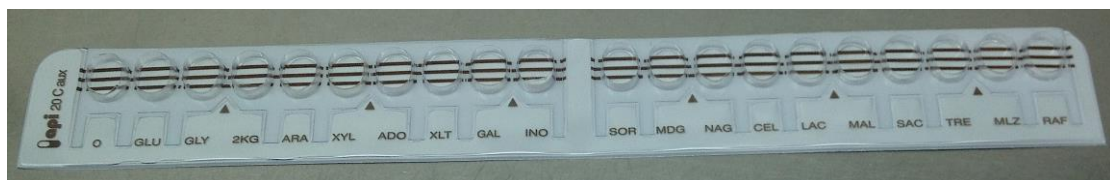


Figura 4-33: Aspecto de una galería API 20 C Aux

Tabla 4-3: Resultados de asimilación de carbohidratos para levadura 1 y levadura 2.

C.H	GLU	GLY	2KG	ARA	XLY	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF
Lev 1	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Lev 2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Con los resultados de asimilación de los carbohidratos (**Tabla 4-3**), con la ayuda del material provisto por el fabricante y la observación microscópica, se lograron identificar los 2 tipos de levaduras las cuales corresponden a:

- Levadura 1: *Candida guilliermondii*
- Levadura 2: *Kloeckera spp* (99.3 % posibilidad)

4.4.15 Estudio de la inhibición microbiana del aceite esencial de romero empleado en forma de vapor.

Cada microorganismo responde de manera diferencial ante agentes antimicrobianos. Así López et al., (2005) comprobaron la efectividad en fase vapor de aceites esenciales de clavo, albahaca, romero, eneldo y jengibre frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y frente a hongos como *Candida albicans*, *Penicillium islandicum* y *Aspergillus flavus*. Los resultados indicaron que los vapores de aceites esenciales tienen mayor efecto frente a hongos que ante bacterias, adicionalmente los AE de canela y clavo tuvieron mayor actividad inhibitoria.

En el presente trabajo se analizó si existía diferencia en el efecto antifúngico sobre las distintas colonias aisladas de rodajas de tomate que habían crecido en presencia de 30 uL de aceite esencial de romero. En primera instancia se analizó la sensibilidad de *A. fumigatus* aislado. Para ello se determinó inicialmente el recuento de conidios por mL cuando se cultivó el hongo filamentoso en cajas de Petri cubiertas o no con su tapa y a su vez dichas placas se ubicaron dentro del empaque original o film PD961, un sistema de almacenamiento análogo al envase de rodajas de tomate. Los recuentos obtenidos se presentan en la **Figura 4-34**.

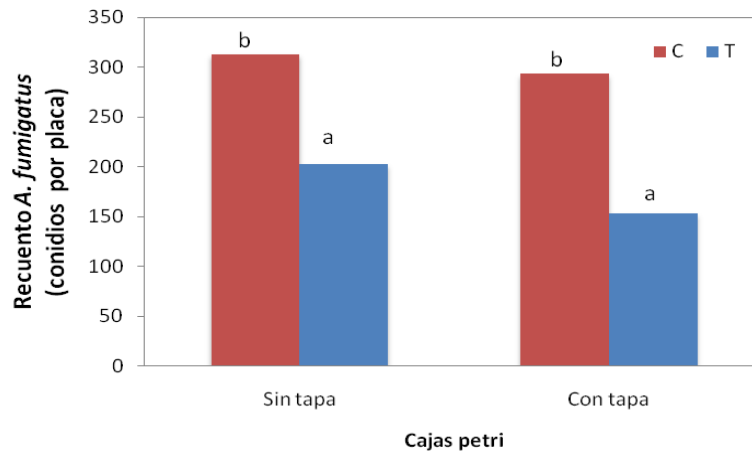


Figura 4-34: Recuento de *A. Fumigatus* inoculado en placas de Petri con medio YGC con y sin tapa, en ausencia (Control) o presencia de vapores de aceite esencial de Romero 30 uL (Tratado) dentro del envase. (LSD= 245). Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05.

Los recuentos del hongo filamentoso que creció en atmósfera con vapores de aceite esencial de romero 30 uL (tratados) fueron significativamente inferiores a los controles. A su vez el efecto de tapar o no el medio resultó en que muestras control y tratadas no tuvieron diferencias significativas entre sí. Por lo tanto se decidió continuar los ensayos sin el uso de tapa en las cajas de petri.

4.4.16 Diferentes concentraciones de microorganismos frente a una misma concentración de aceite esencial de romero (30 uL).

4.4.16.1 Efecto sobre *A. fumigatus*

Una vez decidido emplear el sistema análogo al envase de rodajas de tomate sin tapar las cajas Petri, se inocularon 10^2 y 10^1 conidios totales por caja de petri de *A. Fumigatus*.

Los mismos se muestran en la **Figura 4-35**.

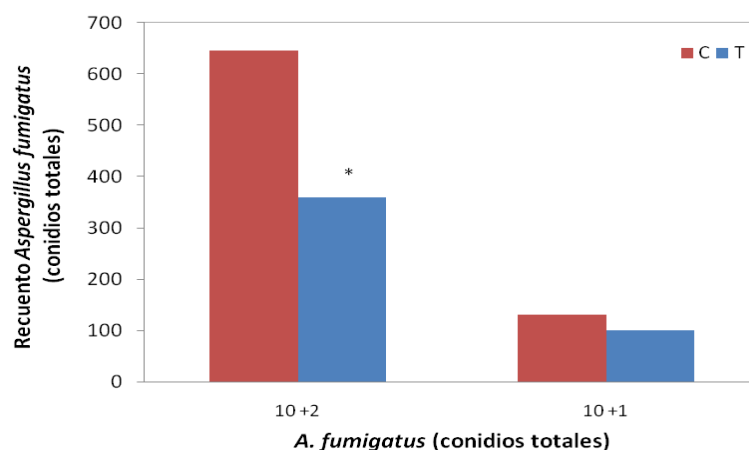


Figura 4-35: Recuento del *A. fumigatus* obtenido luego de haber inoculado 10^2 y 10^1 conidios totales en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 μ L (T) dentro del envase. El asterisco indica diferencias significativas del tratamiento respecto de su control para cada concentración de conidios utilizada en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05.

El efecto del aceite esencial de romero disminuyó los recuentos fúngicos significativamente con respecto al control cuando se sembraron 10^2 conidios totales por placa, logrando una inhibición cercana al 50% con respecto a la muestra control.

4.4.16.2 Efecto sobre *C. guilliermondii*

Se evaluó el efecto antifúngico de los vapores de 30 μ L de aceite esencial de romero inoculando 10^2 y 10^1 UFC por placa de *C. guilliermondii* (Figura 4-36).

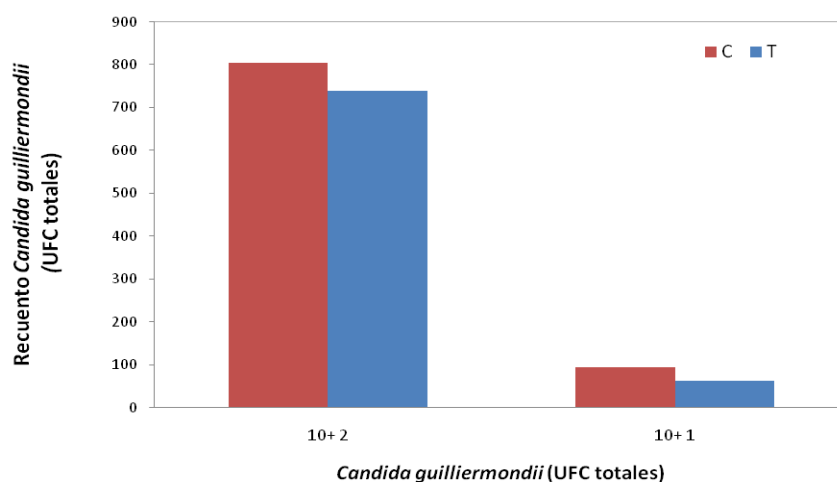


Figura4-36: Recuento de *C. guilliermondii* obtenido luego de haber inoculado, 10^2 y 10^1 UFC totales por placa en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 μ L (T) dentro del envase.

La ausencia de asterisco indica que no existe diferencia significativa del tratamiento respecto de su control para cada concentración de levadura utilizada en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05.

El recuento total de UFC de las diluciones correspondientes a, 10^2 y 10^1 disminuyó en presencia de los vapores de aceite esencial de romero. Sin embargo, no se observó diferencia significativa entre el control y el tratamiento.

4.4.16.3 Efecto sobre *Kloeckera spp*

De igual manera que en el ensayo descrito anteriormente se inocularon 10^2 y 10^1 UFC de *Kloeckera spp.* por caja. En la **Figura 4-37** se presentan los recuentos obtenidos en el cultivo de *Kloeckera spp.*, para muestras controles y tratadas con aceite esencial de romero.

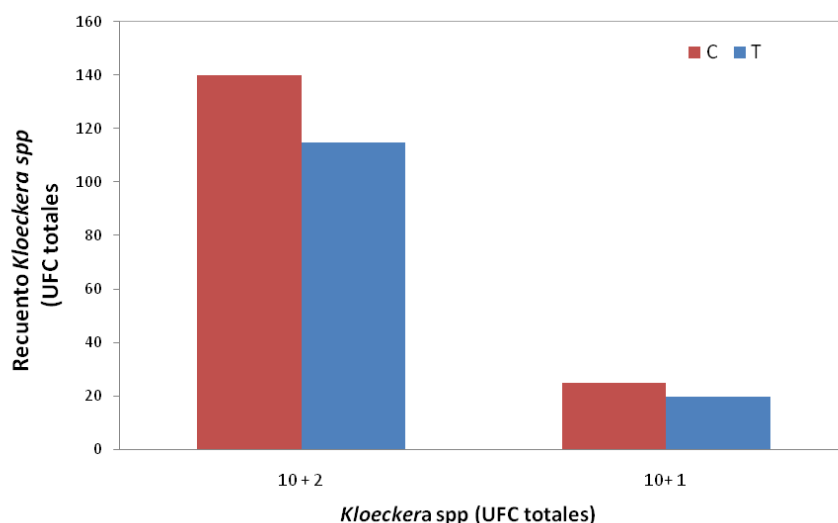


Figura 4-37: Recuentos de *Kloeckera spp.* obtenidos luego de haber inoculado 10^2 y 10^1 UFC totales en ausencia (C) o presencia de vapores de aceite esencial de romero 30 μ L (T).

La ausencia de asterisco indica que no existe diferencia significativa del tratamiento respecto de su control para cada concentración de levadura utilizada en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05.

En las concentraciones analizadas se observó una reducción en los recuentos analizados frente a vapores de aceite esencial de romero, aunque las mismas no fueron significativas entre muestras controles y tratadas.

En el caso de los tres microorganismos se observó que no existe inhibición total en sus respectivas diluciones empleadas, inclusive en recuentos bajos las muestras tratadas son comparables con las controles.

Resultados similares reportaron Vesaltalab et al., (2012) al realizar ensayos *in vitro* donde comprobaron que los vapores de AE de romero en concentraciones de 50 y 100 ppm ejercían un efecto fungistático al controlar el crecimiento de *B. cinerea*. De igual forma Duarte et al., (2013) reportan un efecto fungistático de aceites esenciales de *R. chalepensis* y *P. auritum* sobre *Alternaria solanii* y mediante una dinámica de inhibición concluyen que este efecto puede estar asociado con la cinética de evaporación del aceite esencial el cual tiene mayor concentración de compuestos volátiles durante la fase de adaptación del microorganismo.

También se han reportado resultados en donde la aplicación de AE de flores de *Tagetes erecta* estimularon el crecimiento *in vitro* de *A. Solanii* (Pupo et al., 2011). Son muy escasos los estudios del modo de acción de los AE sobre hongos, es por esto que se deberían realizar futuras investigaciones sobre la acción de los AE y sus componentes, para definir las causas del efecto observado en cada caso.

Algunos estudios demuestran que los vapores generados por los aceites esenciales retrasan el ciclo de vida de algunos mohos en la etapa de germinación, la inactivación del conidio presente en el aire por los vapores del aceite esencial es el proceso clave en la inhibición puesto que el conidio, es estable al calor, la luz, y compuestos químicos, siendo muy difícil de eliminar (Dao et al., 2008). Este efecto se ha observado solo por contacto con vapores de aceites esenciales, puesto que los compuestos volátiles pueden unirse a la hifa reproductiva a diferencia del contacto con una solución (Reyes et al., 2012). De igual forma Tulio et al., (2007) han reportado que el uso de vapores generados por aceites esenciales tiene un mayor efecto antimicrobiano en comparación con el contacto directo, esto ha resultado como un impacto eficiente contra mohos ya que gracias a su crecimiento superficial son más susceptibles a los vapores de aceites esenciales (Edris y Farrag, 2003).

4.4.17 Diferentes volúmenes de aceite esencial de romero frente a una misma concentración de microorganismo.

El empleo de AE resulta ser efectivo en el control de microorganismos a ciertas concentraciones. A su vez, Kalemba et al., (2003) mencionan que la concentración para ejercer una actividad antimicrobiana en los aceites esenciales depende principalmente de sus componentes químicos y el tipo de microorganismo al que debe controlar.

En este sentido Emine et al. (2010) encontraron que los aceites esenciales de lavanda y romero en fase vapor lograron controlar el crecimiento de *B. Cinerea* en plantas de tomate en concentraciones de 1,6 mg mL⁻¹ de aire y 25,6 g mL⁻¹, respectivamente, y concluyen que son necesarias concentraciones mayores de AE de romero para ejercer un efecto antifúngico con respecto a otros AE analizados como orégano y lavanda.

4.4.17.1 Efecto sobre *A. fumigatus*

Se determinó el porcentaje de inhibición de *A. Fumigatus* incubado en el sistema análogo envase de rodajas de tomate empleando distintos volúmenes de aceite esencial de romero (15, 30, 50, 100 uL) como se muestra en la **Figura 4-38**.

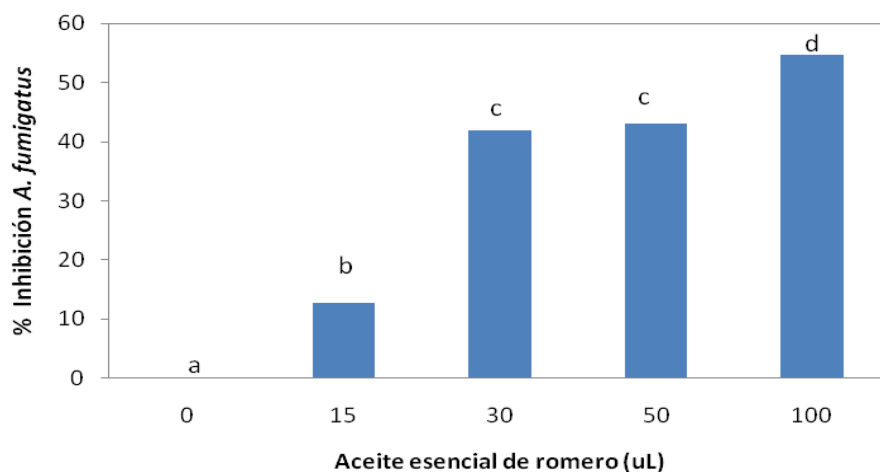


Figura 4-38: Porcentaje de inhibición de *Aspergillus fumigatus* en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05 (LSD=7,76).

Se encontró un incremento significativo en el porcentaje de inhibición en todos los tratamientos evaluados frente a la muestra control, sin embargo no se observó diferencia significativa entre los volúmenes de 30 y 50 uL logrando un 41.9 y 44 % de inhibición,

respectivamente, mientras que se obtuvo un máximo de inhibición (55%) al emplear un volumen de 100 uL.

4.4.17.2 Efecto sobre *C. guilliermondii*

Se calculó el porcentaje de inhibición de *C. guilliermondii* frente a volúmenes de 15, 30, 50, 100 uL de aceite esencial de romero (**Figura 4-39**).

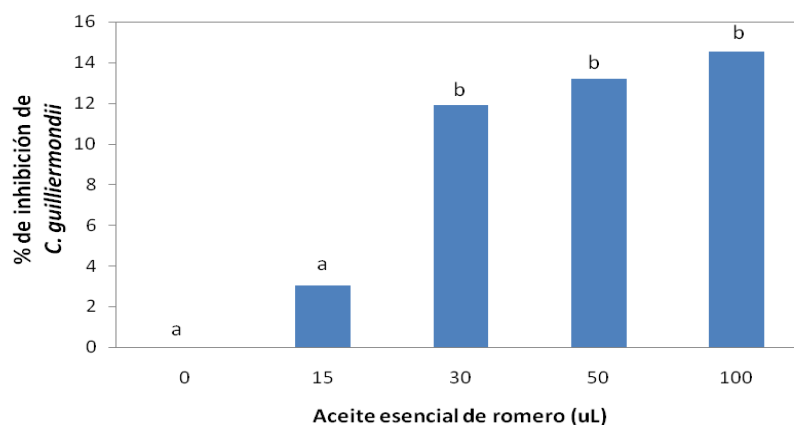


Figura 4-39: Porcentaje de inhibición de *C. guilliermondii* incubada en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero dentro del envase. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05 (LSD= 5,51).

Se observó que no existe diferencia significativa en el recuento de *C. guilliermondii* al utilizar 0 o 15 uL de AE de romero. Sin embargo se observa un aumento en el porcentaje de inhibición al aplicar volúmenes de 30, 50 y 100 uL, sin diferencia significativa entre las mismas, llegando a un máximo de inhibición de 14%. Por lo que se podría decir que *C. guilliermondii* no presenta marcada sensibilidad frente a la variación en el aumento de volumen del AE de romero.

4.4.17.3 Efecto sobre *Kloeckera spp*

Se determinó el porcentaje de inhibición de *Kloeckera spp.* frente a volúmenes de 15, 30, 50, 100 uL de aceite esencial de romero como se muestra en la **Figura 4-40**.

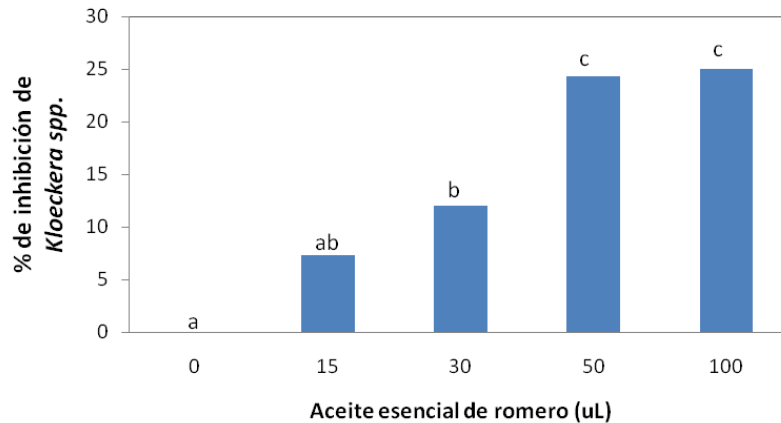


Figura 4-40: Porcentaje de inhibición de *Kloeckera spp.* en ausencia (0 uL) o presencia de distintos volúmenes de aceite esencial de romero. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test LSD de Fisher a un nivel de significancia de 0,05. (LSD = 7,62).

Se determinó que el aceite esencial causó un efecto antifúngico sobre *Kloeckera spp.* a partir de 30 uL, el cual se incrementó al utilizar 50 y 100 uL de AE, llegando a un 25% de inhibición. Por lo que se podría decir que la levadura aislada *Kloeckera spp.* es más sensible al aumento en la concentración de AE de romero respecto de *Candida guilliermondii*. Según estos resultados se observa que se necesita una mayor concentración de AE de romero para reducir el conteo de los microorganismos encontrados, comparado con los 30 uL empleados en los envases que contenían las rodajas de tomate. Sin embargo estos resultados se hallaron al realizar un ensayo *in-vitro*, mientras que la selección de la cantidad de AE a emplear (sección 4.3) se efectuó *in-vivo* y habiendo obtenido buenos resultados. Algunos investigadores como Inouye et al., (2000), Edris y Farrag, (2003) presentaron resultados similares donde analizaron el comportamiento *in-vitro* y concluyen que la diferencia hallada puede deberse a la naturaleza lipófila de los aceites esenciales que los hace más absorbibles por los micelios fúngicos que por el agar debido a la naturaleza altamente lipofílica del micelio fúngico en contraposición al alto contenido de agua de los medios de agar.

Un amplio efecto antimicrobiano ha sido reportado al emplear aceite esencial de romero. Así, Jiang et al. (2011) reportaron que el empleo de aceite esencial de romero resultó activo contra cepas como *S.epidermis*, *S. Aureus*, *P. Vulgaris*, *P. Aeruginosa* y *E.coli*, como así también presentó una marcada actividad antifúngica contra hongos como *C. Albicans*, y *A. niger* en concentraciones entre 0,03% y 1% (v/v) de aceite esencial de romero.

5 CONCLUSIONES

- El presente trabajo permitió investigar sobre el empleo de tomate mínimamente procesado, como una nueva forma de presentación de producto, el cual es sometido a sencillos procesamientos que aumentan su valor comercial y facilitan su consumo, de igual forma se analizó el empleo de aceites esenciales (AE) como una alternativa de conservación del producto envasado en atmósfera modificada a 5 °C.
- Mediante ensayos de análisis sensorial se pudo conocer la preferencia de los consumidores eventuales de tomate (no entrenados), los cuales eligieron el estadio de madurez del tomate rojo pálido y para su presentación una bandeja de telgopor rectangular.
- En este estudio se seleccionó al AE de romero 30 uL como el tipo de aceite y concentración adecuada para una mejor conservación del tomate cortado en rodajas, entre varias concentraciones del mismo aceite y de AE de laurel ensayados previamente.
- Durante el almacenamiento a 5 °C el empleo de AE de romero 30 uL redujo la proliferación de microorganismos logrando un menor deterioro y mejor calidad del producto a los 13 días de almacenamiento, de igual forma redujo el ablandamiento en las rodajas desde el día 8, sin afectar la pérdida de peso, el desarrollo del color, acidez, contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del tomate fresco cortado.
- Se pudo cuantificar e identificar (mediante CG-MS) los compuestos volátiles presentes en el AE de romero como α -pineno, canfeno, p-cimeno, 1,8-cineol y L-canfor, donde se evidenció que desde el día 4 de almacenamiento, el 1,8-cineol y L-canfor fueron los compuestos mayoritarios en la atmósfera de las bandejas tratadas y los únicos presentes en las rodajas de tomate.
- Mediante un ensayo microbiológico se comprobó que el empleo de AE de romero (30 uL) retrasó efectivamente el recuento de hongos y levaduras.
- Se aisló un hongo filamentoso el cual se identificó como *Aspergillus fumigatus* y dos levaduras que se identificaron como *Candida guilliermondii* y *Kloeckera* spp.
- Mediante ensayos *in vitro* se comprobó que la capacidad fungistática frente a estos microorganismos se incrementa al aumentar la cantidad de AE de romero.

- Los ensayos de inhibición *in-vitro* mostraron una mayor sensibilidad del hongo filamentoso *A. fumigatus* frente a diferentes volúmenes de AE de romero, a diferencia de las levaduras *C. guilliermondii* y *Kloeckera* spp. que mostraron menor respuesta.

Estos resultados indican que el empleo de AE de romero 30 uL permitió incrementar los beneficios de la refrigeración y mantener la calidad de tomate fresco cortado al retrasar principalmente el desarrollo de microorganismos sin ocasionar cambios importantes en su valor nutricional.

6 BIBLIOGRAFIA

- Abushita, A. A., Daood, H. G., Biacs, P. A. 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J Agric. Food Chem*, 48, 2075-2081.
- Aguayo, E. Artés, F. 2004. Elaboración del tomate mínimamente procesado en fresco. *Compendios de Horticultura*. 15. Ediciones de Horticultura S.L., Reus, España.
- Agunu, A., Yusuf, S., Andrew, G.O., Zezi, A.U., Abdurahman, E.M. 2005. Evaluation of five medicinal plants used in diarrhea treatment in Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 101, 27-30.
- Ahvenainen, R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 7, 179-187.
- Al-Sereiti, M.R., Abu-Amer, K.M., Sen, P. 1999. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis*Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp. Biol.* 37, 124-30.
- Allende, A., Mc Evoy, J., Luo, Y., Artés, F., Wang, C. 2006. Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed Road Oak Leaf lettuce. *Food Microbiol.* 23, 241-249.
- Alzamora, S. M., Tapia, M.S., Argai, A., Welti, J. 1993. Application of combined methods technology in minimally processed fruits. *Food Res. Int.* 26, 125-130.
- Alzamora, S.M., Tapia, M.S., Argai, A., Welti, J. 1998. New strategies for minimal processing of foods: the role of multi-target preservation. *Food Sci. Technol. Int.* 4, 353-361.
- Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J.D., Arlorio, M., Dess, i S., Coroneo, V., Cabras, P. 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3530-3535.
- Artés-Hernandez, F., Aguayo, E., Gómez, P., Artés, F. 2009. Innovaciones tecnológicas para preservar la calidad: Productos vegetales mínimamente procesados o de la “cuarta gama”. *Horticultura Internacional.* 69, 52-57. En: http://www.horticom.com/revistasonline/extras/extra09/52_57.pdf
- Artés, F. 2000. Productos vegetales procesados en fresco. En: *Aplicación del frío a los alimentos*. M. Lamúa (ed.). Mundiprensa, Madrid, España. pp 127-141.

- Artés, F., Conesa, M, Hernández, S., Gil, M, 1999. Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biol. Technol.* 17, 153-162.
- Ávila-Sosa, R., Palou, E., Jiménez, M.T., Nevárez-Moorillón, G.V., Navarro, A.R., López-Malo, A. 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Int. J. Food Microbiol.* 94 (3), 223-253.
- Ayala-Zavala, J.F. González, G. A., del Toro, L. 2009. Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. *J. Food Sci.* 74, 84-91.
- Báez, M., Contreras, R. 2013. Adelanto y retraso de la maduración de tomates con etileno y 1-MCP. *Tecnologías de horticultura mediterránea (THM)*. En: <http://www.horticulturablog.com/2013/09/adelanto-y-retraso-delamaduracionde.html>
- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Malundo, T.M.M., Shewfelt, R.L., Tandom, K.S. 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123, 900-915.
- Batish, D., Singh, H., Kohli, R., Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol. Manage.* 256, 2166-2174.
- Binoy, G., Charanjit, K., Khurdiya, D.S., Kapoor, H.C. 2003. Antioxidants in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype. *Food Chem.* 84, 45-51.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., J.M. 1999. Study of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil yield and composition as a function of the plant life cycle. *J. Essen. Oil Res.* 11, 238-240.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia officinalis L.*, *Lamiaceae*) essential oils. *J. Agr. Food Chem.* 55, 7879-7885.
- Bradley, P. R. 1992. (ed.). *British herbal compendium. A handbook of scientific information on widely used plant drugs.* British Herbal Medicine Association, Bournemouth, UK.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berest, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss. Technol.* 28, 25-30.

- Brecht, J. 1995. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. Hort. Science 30, 18-22.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. Int. J. Food Microbiol. 94, 223-253.
- Cantwell, M. 2004. Fresh Market Tomato. Statewide Uniform Variety Trial Report Field and Postharvest Evaluations. Universidad de California. South San Joaquin Valley, EE.UU.
- Chamarro, J.C. 1995. Anatomía y fisiología de la planta. En: El cultivo del tomate. (ed). Nuez, F. Ediciones: Mundi-Prensa. Madrid, pp. 44-91.
- Chang, C.H., Lin, H.Y., Chang, C. Y., Liu, Y.C. 2006 Comparisons on the antioxidant properties of fresh freeze-dried and hot air dried tomatoes. J. Food Eng. 77, 478-485.
- Chassy, A.W., Bui, L., Renaud, E.N., Van Horn, M., Mitchell, A.E. 2006. Three-year comparison of the content of antioxidant micro constituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers. J. Agric. Food Chem. 54, 8244-8252.
- Civello, P.M., Vicente, A.R., Martínez, G.A. 2007. UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. En: Recent advances in alternative postharvest technologies to control fungal diseases in fruits & vegetables. Ed: Troncoso-Rojas R., Tiznado-Hernandez M.E., González-León A. pp 71-102.
- Dao, T., Bensoussan, M., Gervais, P., Dantigny, P. 2008. Inactivation of conidia of *Penicillium chrysogenum*, *P. Digitatum* and *P. Italicum* by ethanol solutions and vapours. Int. J. Food Microbiol. 122, 68,73
- Davies, J.N., Hobson, G.E. 1981. The constituents of tomato fruit. The influence of environment, nutrition, and genotype. Crit. Rev. Food Sci. & Nut. 15, 205-280.
- De Azeredo, G., Montenegro, T., Campos, P., Gomes, N., Gomes, M., De Souza, E. 2011. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. Food Res. Int. 44, 154-1548
- Deans, S.G., Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. Int. J. Food Microbiol. 5, 165– 180.
- Dellacassa, E., Lorenzo, D., Moyna, P., Frizzo, C. D., Atti-Serafini, L., Dugo, P. 1999.

Rosmarinus officinalis L. (Labiatae) essential oils from the South of Brazil and Uruguay. J. Essen. Oil Res. 11, 27-30.

- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., Liu, R, H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agr.Food Chem. 50, 3010–3014.
- Duan, S. Moeller, K, D. 2001. Anodic coupling reactions: probing the stereochemistry of tetrahydrofuran formation. A short, convenient synthesis of Linalool oxide. Org. Lett. 3, 2685-2688.
- Duarte, Y., Pino, O., Infante, D., Sánchez, Y., Travieso, M., Martínez, B. 2013. Efecto *in vitro* de aceites esenciales sobre *Alternaria solani* Sorauer. Protección Veg. 28, 54-59.
- Edris, A.E., Farrag, E.S., 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapour phase. Nahrung. 47, 117–121.
- Emine, M., Sener, K., S, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. Int J. Food Microbiol. 143, 183-9.
- Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E., 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. J. Food Protect. 65, 1545–1560.
- Gillasp, G., Ben, H., Gruissem, W. 1993. Fruits: A developmental perspective. Plant Cell. 5, 1439-1451.
- Giovannucci, E., Clinton, S.K. 1998. Tomato, lycopene and prostate cancer. P. Soc. Exp. Biol. Med.218, 129-139.
- Gomez, C., Fiorenza, F., Izquierdo, L., Costell, E., 1998. Perception of mealiness in apples: a comparison of consumers and trained assessors. Z. Lebensm. Unters. Forsh. A. 207, 304-310.
- González, R.J., Allende, A., Ruiz-Cruz, S., Luo, Y. 2005. Capítulo 4: Tendencias y demandas para su comercialización. En: Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. Ed: González-Aguilar, G.A, Gardea A.A., Cuamea-Navarro, F.

- Grayson, D. H. 2000. Monoterpenoids. Nat. Prod. Rep. 17, 385-419.
- Guenther, E. 1982. The essential oils, Vol. IV. Individual essential oils of the plant families Gramineae, Lauraceae, Burseraceae, Myrtaceae, Umbelliferae and Geraniaceae. Ed: Robert E. Krieger Publishing Company, New York.
- Gutierrez, J., Rodriguez, G., Barry-Ryan, C., Bourke, P. 2008. Efficacy of plant essential oils against food borne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables; antimicrobial and sensory screening. J. Food Prot. 71, 1846-1854.
- Hanson, P. M., Yang, R., Wu, J., Chen, J., Ledesma, D., Tsou, S. C. 2004. Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 129, 704-711.
- Hart, D., Scott, K. 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. Food Chem. 54, 101-111
- Hernández, J. 2013. Caracterización físico-química y microbiológica del tomate margariteño (*Lycopersicon esculentum* var. España) y evaluación de la efectividad de tratamientos de pre- envasado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente. Tesis doctoral de la Universidad de Córdoba, España.
- Ho, L., Hewitt, J. 1986. Fruit development In: The Tomato Crop. A Scientific Basis for Improvement. Ed: Atherton, J., Rudich, J. Chapman and Hall, New York. USA. 201-239.
- Inouye, S., Tsuruoka, T., Watanabe, M., Takeo, K., Akao, M., Nishiyama, Y., Yamaguchi, H., 2000. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. Mycoses 43, 17–23.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Devere, J. 1999. Validation of a systematic approach to design equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut produce. LWT-Food Sci. Technol. 32, 425-432.
- Jamal Uddin, A.F.M., Hashimoto, F., Miwa, T., Ohbo, K. Sakata, Y. 2004. Seasonal variation in pigmentation and anthocyanidin phenetics in commercial Eustoma flowers. Sci. Hortic. 100,103–115.
- Jang, I. S., Ko, Y. H., Kang, S. Y., Lee, C. Y. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Anim. Feed Sci. Technol. 134, 304–315.
- Jiang, Y., Wu N., Fu, Y., Wang, W., Luo, M., Zhao, Ch., Zu, Y., Liu, X. 2011. Chemical

composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. Environ. Toxicol. Phar. 32, 63–68.

- Kader, A. 1992. Quality and safety Factors: Definition and evaluation for fresh horticultural crops. En: Postharvest technology of horticultural crops. University. Of California, division of Agriculture and Natural Resources, second edition, publication 3311, 185-187.
- Kader, A. 2007. Sistemas de manejo poscosecha: Frutas y hortalizas precortadas (mínimamente procesadas). En: tecnología Poscosecha de Cultivos Hortofrutícolas. 3° edición Universidad de California Centro de Información e Investigación en Tecnología Poscosecha División de Agricultura y Recursos Naturales Series de Horticultura Poscosecha No. 24 Traducción de la publicación 3311 de ANR.
- Kader, A.A. 2002. Postharvest technology of horticultural crops, third edition. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, 535 p.
- Kalemba, D., Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10, 813-829.
- Koide, S., Shi, J. 2007. Microbial and quality evaluation of green peppers stored in biodegradable film packaging. Food Control. 18, 1121-1125.
- Kris-Etherton, P., Hecker, K., Bonanome, A., Coval, S., Binkoski, A., Hilpert, K., Griel, A. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. Am. J. Med. 113, 715-885.
- Land, G., Harrison, B., Hulme, B., Cooper, B., and Byrd, JC. 1979. Evaluation of the new API 20 C Strip yeast identification against a conventional method. J. Clin. Microbiol. 3, 357-364.
- Larrán, S., Ringuélet, J. A., Carranza, M., Henning, C., Ré, M., Cerimele, E., 2001. In vitro fungistatic effect of essential oils against *Ascosphaera apis*. J. Essen. Oil Res. 13, 122-124.
- Lawrence, B.M. 1995. Progress in essential oils: rosemary oil. Perfumer & Flavorits, 20, 47-54.
- López, P., Sánchez, C., Batle, R., Nerín, C. 2005. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. J. Agr. Food Chem. 53, 6939-6946.

- López-Galvez, G., Cantwell, M. 1996. Los productos de cuarta gama en Estados Unidos. *Horticultura* 117, 33-38.
- López-Rubira, V., Artés-Hernández, F., Calero, F. 2007. Evaluación de la calidad de granadas tratadas con UV-C y almacenadas en atmósfera controlada. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Poscosecha y Agroexportaciones. Cartagena, España. 137-145.
- Luthria, D., Mukhopadhyaya, S., Krizek, D. T. 2006. Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *J. Food Compos. Anal.* 19, 771-777.
- Miguel, M.G., Guerrero, C., Rodrigues, H., Brito, J. 2007. Essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. effect of harvesting dates growing media and fertilizers. En: Proceedings of the 3rd IASME/WSEAS International Conference on Energy, Environment, Ecosystems and Sustainable Development, Agios Nikolaos, Greece. 24-26..
- Mizrahi, I., Juarez, M. A., Bandoni, A. L. 1991. The essential oil of *Rosmarinus officinalis* growing in Argentina. *J. Essen. Oil Res.* 3, 11-15.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* 26, 211-219.
- Moreira, M.R., Ponce, A., Del Valle C., Roura S. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *Food Sci. Technol Int.* 38, 565-570.
- Ojeda-Sana, A., van Baren, C., Elechosa, M., Juárez, M., Moreno, S. 2012. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control.* 31, 189–195.
- Papachristos, D., Stamopoulos, D. 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapors on *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod.* 38, 117–128.
- Parzanese, M. 2012. Vegetales mínimamente procesados. *Alimentos Argentinos* 55, 31-39 En:
http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55_vegetales.pdf

- Phillips, C.A., Laird, K., Allen, S.C. 2011. The use of Citri-V™®- An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and food. Food Res. Int. 0, 1-5.
- Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R., Casanova, J. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oil from Sardinia and Corsica. Flav. Fragr. J. 17, 15-19.
- Ponce, A., Roura, S., Del Valle, C., Moreira, M. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* Studies. Post. Biol Tec. 49, 294-300.
- Porte, A., De, O., Godoy, R. L., Lopes, D., Koketsu, M., Goncalves, S. L. 2000. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil. J. Essen. Oil Res. 12, 577-580.
- Porter, J. W., and Spurgeon, S.L. 1983. Biosynthesis of carotenoids, in: Biosynthesis of isoprenoid compounds. Wiley-Interscience Publication, Vol. 1, (ed.). John. New York
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S., 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complement Altern. Med. 30, 6- 39.
- Pupo, Y., Kalombo, D., Herrera, L., Malheiros de Mendonca, D., Vargas, B. 2011. Efecto de extractos vegetales en el crecimiento y germinación de esporas de *Alternaria solani* (E. & M.) j. & G. en condiciones *in vitro*. Rev. Iberoam Micol. 28, 60.
- Ramos, M., Bautista, S., Barrera, L., Bosquez, E., Tejacal, I., Estrada, M. 2010. Antimicrobial compounds added in edible coatings for use in horticultural products. Rev. Mex. Fitopatol. 28, 0185-3309.
- Rao, A. V., Agarwal S. 1998. Bioavailability and *in vivo* antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. Nut. Cancer. 31, 199-203.
- Reyes-Jurado, F., Palou, E., y López, A., 2012. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6, 29-39.
- Rodoni, L., Casadei, N., Concellón, A., Chaves, A.R., Vicente, A.R. 2010. Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. J. Agric. Food Chem. 58, 594-599.

- Rose, J., Catalá, C., Gonzalez-Carranza, Z.H., Roberts, J.A. 2003. Cell Wall disassembly. (ed.). Raised, J.K.C. The Plant Cell Wall. Blackwell Publishing Ltd.Oxford, UK. 264-324.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Brunir, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chem. 91, 621-632.
- Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K., Strohshine, R.L., 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. Lebensm.Wiss. Tech. 35, 720– 729.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. Meth. Enzymol. 299, 152–153.
- Sirisoma, N. S.; Hold, K. M., Casida, J. E. 2001. α - and β -thujones (herbal medicines and food additives): synthesis and analysis of hydroxy and dehydro metabolites. J. Agr. Food Chem. 49, 1915-1921.
- Skandamis, P. y Nychas, G.J. 2002. Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. J. Food Microbiol. 79, 35-45
- Skandamis, P., Tsigarida, E., Nychas, G.J, 2000. Ecophysiological attributes of *Salmonella typhimurium* in liquid culture and within a gelatin gel with or without the addition of oregano essential oil. World J. Microb. Biot. 16, 31– 35.
- Skandamis, P.N., Nychas, G.J., 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs and oregano essential oil concentrations. Appl. Environ. Microb. 66, 1646–1653.
- Smith, D.L., Starret, D.A., Gross, K.C. 1998. A gene encoding for tomato fruit β -galactosidase II is expressed during fruit ripening. Plant Physiol. 117, 417-423.
- Soyly, EM. Kurt, S., Soyly, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. Int. J. Food Microbiol. 143, 183-9.
- Suslow, T.V, Cantwell, M. 2000. Consulta: set. Distribución en el sistema de comercialización de hortalizas de Argentina. Indicadores básicos del manejo

postcosecha de tomate (Jitomate). En:

http://www.postharvest.ucdavis.edu/Hortalizas/Tomate_Jitomate/. Consulta 2012.

- Szummy, A., Figiel, A., Gutierrez-Ortiz, A., Carbonell-Barrachina, A.A. 2010. Composition of Rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. J. Food Eng. 97, 253-260.
- Tulio, V., Nostros, A., Mandras, N., Dugo, P., Banche, G., Cannatelli, M., Cuffini, A., Alonzo, V. Y Carlone, N. A. 2007. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. J. Appl. Microbiol. 102, 1544-1550.
- Turek, C., Stintzing, F.C. 2012. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. Food Res. Int. 46, 341–353.
- Tzortzakis N. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. Innov. Food Sci. Emerg. 8, 11-116.
- USDA. 2008. USDA national nutrient database for standard reference. En: <http://WWW.ars.usda.gov/nutridata>.
- Vallerdú, Anna., Medina, Alexander., Casals, Isidre., Lamuela, Rosa M. 2011. Is there any difference between the phenolic content of organic and conventional tomato juices? Food Chem. 130, 222-227.
- Verweij, P., Breuker, I., Rijs, A., Meis, J. 1999. Comparative study of seven commercial yeast identification systems. J. Clin. Pathol. 52, 271-273.
- Vesaltalab, Z., Mansour, G., Zafari, D. 2011. Clove Buds (*Eugenia caryophyllata*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Essential oils effects on control of grapes gray mold *in-vitro*. Annals Biol. Res. 3, 2447-2453.
- Vicente, A.R., Martínez, G.A., Chaves, A.R., Civello, P.M. 2002. Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. Postharvest Biol. Technol. 25, 59-71.
- Vicente, A.R., Martínez, G.A., Chaves, A.R., Civello, P.M. 2005. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. Postharvest Biol. Technol. 40, 116-122.
- Waliwitiya, R., Kennedy, C., Lowenberger, C., 2008. Larvicidal and oviposition- altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Pest Manag. Sci. 65,241–248.

- Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J., 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J. Appl. Microbiol. 84, 152–15.
- Watada, A., Qi, L. 1998. Quality of fresh-cut produce. Postharvest Biol. Technol. 15, 201-205.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. J. Anim. Sci. 86, 140–148.
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.J., Zu, Y.G., Liu, X.L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. Environ. Toxicol. Phar. 32, 63–68.
- Yesil Celiktas, O., Hames Kodabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chem., 100, 553-559.

Páginas Web consultadas:

- FAO 2007. Fichas técnicas Productos frescos y procesados - Tomate (*Lycopersicon esculentum*) 2007 En: [ww.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/tomate.htm](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/tomate.htm)
- Instituto Desarrollo Rural (IDR) 2013. Informes por producto: Tomate. Red Provincial de Precios Pagados a Productor Provincia de Mendoza 2013. En: http://www.idr.org.ar/wpcontent/uploads/2012/08/InformeTomate_hasta2012-13_docx.pdf
- SAGPYA 2008. Descripción y mercado de los distintos productos hortícolas En: <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>