

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

**ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS
TÉRMICOS SUAVES Y ANTIOXIDANTES DE ORIGEN
NATURAL A MANZANAS FRESCAS CORTADAS**

por

Ing. Alim. Mariana RODRÍGUEZ ARZUAGA

Directora de Tesis: Mg. Andrea M. PIAGENTINI

Miembros del Jurado: Dr. Guillermo Sihufe

Dra. Roxana Verdini

Mg. Carlos Osella

INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

- 2015 -

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

A Andrea Piagentini, por permitirme realizar esta Tesis bajo su dirección, por su generosidad para compartir su conocimiento, su esfuerzo y dedicación.

Al Laboratorio Tecnológico del Uruguay, por brindarme la oportunidad de realizar esta Maestría y por financiar mi estadía en Santa Fe.

A María Borthagaray, por su confianza, apoyo y estímulo.

A mis compañeros de trabajo y amigos, Ana, Caro, Rodrigo, Boni, Carlos y Yanina, cuyo esfuerzo hizo posible mis casi dos años de ausencia.

A Jacqueline Cea, por su comprensión durante la última etapa de la Tesis.

Al Dr. Norberto Gariglio y el Ing. Juan Carlos Favaro de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Litoral, por el aporte de las manzanas ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’, que permitieron la realización de esta Tesis.

A Mariel, Daniel, Franco, Rubén, Bochi y Guillermina, por las horas compartidas y su colaboración desinteresada en todo momento.

A todos los integrantes del Instituto de Tecnología de Alimentos por su calidad académica y humana, por tener siempre disposición para ayudarme y por hacerme sentir como en casa, especialmente a las áreas de Microbiología de Alimentos, Evaluación Sensorial, Estudios Fisicoquímicos de Alimentos y Cereales y Oleaginosas.

A los miembros del panel sensorial por su fundamental participación en esta Tesis y por no cansarse nunca de probar mis manzanas.

A la Educación Pública uruguaya y argentina.

A papá, mamá y Ceci, por su estímulo y su apoyo incondicional, que fueron indispensables para animarme a emprender este camino.

A Patricio, por acompañarme siempre, aún a la distancia, y por motivarme a seguir en los momentos de cansancio.

A mis amigos de acá y de allá, por ayudarme a acortar las distancias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
ABREVIATURAS	XIX
RESUMEN	XXII
1. INTRODUCCIÓN	25
1.1. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS CORTADAS	25
1.2. MERCADO DE PRODUCTOS CUARTA GAMA	26
1.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS MANZANAS.....	28
1.3.1. Variedades.....	30
1.3.2. Compuestos fenólicos.....	30
1.3.3. Manzanas frescas cortadas	31
1.4. ATRIBUTOS DE CALIDAD DE FRUTAS FRESCAS CORTADAS.....	35
1.4.1. Factores que intervienen en la pérdida de calidad	36
1.4.1.1. Pardeamiento enzimático.....	36
1.4.1.2. Pérdida de firmeza	37
1.4.1.3. Deterioro microbiológico.....	38
1.5. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS	39
1.5.1. Aplicación de tratamientos térmicos suaves.....	40
1.5.2. Aplicación de tratamientos químicos	41
1.5.2.1. Aplicación de antioxidantes de origen natural	43
1.6. OBJETIVOS.....	45
1.6.1. Objetivo general.....	45
1.6.2. Objetivos específicos.....	45
1.6.2.1. Respecto de las variedades de manzana	45
1.6.2.2. Respecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves	45
1.6.2.3. Respecto de la aplicación de tratamientos químicos	45
2. MATERIALES Y MÉTODOS	48
2.1. MATERIA PRIMA.....	48
2.1.1. Caracterización de la materia prima.	48
2.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS SUAVES A MANZANAS ENTERAS	49
2.2.1. Determinación de las curvas de calentamiento-enfriamiento y tiempo de semienfriamiento.....	49
2.2.2. Evaluación preliminar. Selección de variedades para la aplicación de tratamientos térmicos.....	52
2.2.3. Diseño experimental.	53

2.2.3.1.	Límites del dominio experimental	53
2.2.3.2.	VARIABLES Y RESPUESTAS ESTUDIADAS.	54
2.2.3.3.	Elaboración de las muestras	55
2.2.3.4.	Análisis estadístico.....	55
2.3.	ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS QUÍMICOS A MANZANAS FRESCAS CORTADAS	56
2.3.1.	Evaluación de las propiedades de la infusión de yerba mate (YM).....	56
2.3.1.1.	Preparación de las infusiones de YM.....	56
2.3.1.2.	Decoloración de las infusiones de YM.....	56
2.3.1.3.	Efecto de la concentración de YM y carbón activado sobre las propiedades de las infusiones de YM.....	56
2.3.1.4.	Análisis estadístico. Coeficiente de correlación de Pearson	57
2.3.2.	Ensayos preliminares.....	59
2.3.2.1.	Etapas de procesamiento para la obtención de manzanas frescas cortadas	59
2.3.2.2.	Evaluación preliminar del efecto de los diferentes tratamientos antioxidantes sobre la calidad de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas.	62
2.3.3.	Diseño experimental	63
2.3.3.1.	Límites del dominio experimental.	63
2.3.3.2.	Diseño de Box-Behnken. Variables y respuestas estudiadas.	63
2.3.3.3.	Determinación de las concentraciones óptimas.....	65
2.3.3.4.	Análisis estadístico.....	66
2.3.3.5.	Validación de los modelos obtenidos	66
2.3.4.	Ensayo de almacenamiento de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas	67
2.3.4.1.	Análisis estadístico.....	68
2.3.5.	Estudio de aceptabilidad	68
2.3.6.	Análisis estadístico	69
2.4.	MÉTODOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	70
2.4.1.	Determinación de peso y diámetro	70
2.4.2.	Determinación de pH.....	70
2.4.3.	Determinación de acidez titulable	70
2.4.4.	Determinación del contenido de sólidos solubles	71
2.4.5.	Determinación de firmeza en manzanas	71
2.4.6.	Determinación del color	71
2.4.7.	Preparación del extracto de manzana para la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante	73
2.4.8.	Determinación de polifenoles totales.....	73
2.4.8.1.	Reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C) modificado	73
2.4.8.2.	Solución de carbonato de sodio	73
2.4.8.3.	Curva de calibración de ácido gálico.....	74
2.4.8.4.	Medida de polifenoles totales.....	74
2.4.9.	Determinación de capacidad antioxidante.....	75
2.4.9.1.	Método del radical DPPH*	75
2.4.9.2.	Solución metanólica de DPPH*.....	76
2.4.9.3.	Medida de la capacidad antioxidante	76
2.4.9.4.	Método FRAP (ferric reducing-antioxidant power).....	77
2.4.9.4.1.	Reactivo de FRAP	78
2.4.9.4.2.	Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la capacidad antioxidante en manzanas	78
2.4.9.4.3.	Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la capacidad antioxidante en infusiones de yerba mate	78

2.4.9.4.4.	Medida de la capacidad antioxidante en muestras de manzana	79
2.4.9.4.5.	Medida de la capacidad antioxidante en infusiones de yerba mate.....	80
2.4.10.	Determinación de ácido ascórbico y vitamina C.....	80
2.4.10.1.	Equipamiento utilizado	81
2.4.10.2.	Fase móvil.....	81
2.4.10.3.	Extracción y determinación	81
2.4.10.4.	Curva de calibración.....	82
2.4.10.5.	Condiciones cromatográficas	82
2.4.11.	Análisis sensorial.....	83
2.4.11.1.	Análisis sensorial descriptivo	83
2.4.12.	Análisis microbiológico.....	87
2.4.12.1.	Aerobios mesófilos totales (AMT).....	87
2.4.12.2.	Microorganismos psicrotrofos.....	87
2.4.12.3.	Mohos y levaduras.....	88
2.4.13.	Determinación de la composición gaseosa en el interior del envase.....	88
2.4.13.1.	Determinación de la concentración de los gases.....	88
2.4.13.2.	Determinación de los factores de respuesta	89
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	92
3.1.	CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA.....	92
3.2.	APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS SUAVES A MANZANAS ENTERAS.....	94
3.2.1.	Determinación de las curvas de calentamiento-enfriamiento y tiempo de semienfriamiento.....	95
3.2.2.	Selección de las variedades para la aplicación de tratamientos térmicos.....	97
3.2.3.	Efecto de los tratamientos térmicos suaves sobre la calidad de manzanas de las variedades seleccionadas luego de 24h.....	99
3.2.3.1.	Manzanas variedad 'Caricia'	100
3.2.3.2.	Manzanas variedad 'Eva'	112
3.2.3.3.	Manzanas variedad 'Princesa'	119
3.2.3.4.	Análisis de los resultados obtenidos después de 24h de realizados los tratamientos térmicos	124
3.2.4.	Efecto de los tratamientos térmicos suaves sobre la calidad de manzanas de las variedades seleccionadas luego de 7 días.....	126
3.2.4.1.	Efecto del corte y tiempo de almacenamiento sobre los atributos de calidad de las muestras control	126
3.2.4.2.	Manzanas variedad 'Caricia'	128
3.2.4.3.	Manzanas variedad 'Eva'	132
3.2.4.4.	Manzanas variedad 'Princesa'	137
3.2.4.5.	Análisis de los resultados obtenidos sobre las muestras tratadas térmicamente, mínimamente procesadas y almacenadas durante 7días.....	143
3.3.	APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS QUÍMICOS A MANZANAS FRESCAS CORTADAS.....	145
3.3.1.	Propiedades de la infusión de yerba mate para su utilización como antioxidante natural en manzanas frescas cortadas.....	145
3.3.1.1.	Efecto de la concentración de YM y concentración de carbón activado	147
3.3.1.2.	Relación entre color, contenido de polifenoles y actividad antioxidante de las infusiones de yerba mate	156
3.3.1.3.	Modelado de la variación de color, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate.....	157
3.3.2.	Evaluación preliminar del efecto de diferentes tratamientos antioxidantes.....	158

3.3.2.1.	Caracterización de las soluciones antioxidantes aplicadas.....	158
3.3.2.2.	<i>Efecto de los tratamientos antioxidantes sobre manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas</i>	159
3.3.2.3.	Análisis de los resultados obtenidos en los ensayos preliminares.....	166
3.3.3.	Diseño experimental	167
3.3.3.1.	Efecto de los componentes de la solución antioxidante sobre la calidad.	167
3.3.3.2.	Determinación de las concentraciones óptimas.....	185
3.3.3.3.	Validación de los modelos obtenidos.	189
3.3.4.	Efecto del mínimo procesamiento	190
3.3.5.	Ensayo de almacenamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas	199
3.3.5.1.	Parámetros fisicoquímicos.....	199
3.3.5.2.	Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante	206
3.3.5.3.	Atributos sensoriales	214
3.3.5.4.	Recuentos microbiológicos	220
3.3.5.5.	Composición gaseosa.....	226
3.3.5.6.	Correlaciones entre las distintas respuestas estudiadas.....	228
3.3.6.	Ensayo de aceptabilidad	231
4.	CONCLUSIONES	237
4.1.	RESPECTO DE LAS VARIEDADES DE MANZANAS	237
4.2.	RESPECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS SUAVES	237
4.3.	RESPECTO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS QUÍMICOS	239
5.	BIBLIOGRAFÍA	243

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Variables independientes y niveles usados.....	55
Tabla 2.2. Tratamientos aplicados	62
Tabla 2.3. Diseño Experimental de Box-Behnken. Variables independientes y sus niveles..	64
Tabla 2.4. Atributos sensoriales utilizados para el análisis sensorial descriptivo de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas y sus definiciones.....	84
Tabla 2.5. Puntajes de “Apariencia general” y “Pardeamiento” asociados a las muestras de referencia presentadas en la Figura 2.19	89
Tabla 2.6. Factores de respuestas (F_{Ri}) y coeficientes de determinación (R^2).....	90
Tabla 3.1. pH, sólidos solubles y firmeza de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’	93
Tabla 3.2. Tiempos de semienfriamiento correspondientes a las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’	97
Tabla 3.3. Parámetros de color L^* , a^* y b^* de manzanas variedades ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’, tratadas térmicamente a 45°C durante 55 minutos (tratadas) y sin tratar (control)	98
Tabla 3.4. Porcentaje de retención de firmeza y polifenoles totales de manzanas variedades ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Princesa’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’, tratadas térmicamente a 45°C durante 55 minutos	99
Tabla 3.5. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas ‘Caricia’	101
Tabla 3.6. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Caricia’	101
Tabla 3.7. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’	108
Tabla 3.8. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’	109
Tabla 3.9. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas ‘Eva’	113
Tabla 3.10. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Eva’	114
Tabla 3.11. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Eva’	117
Tabla 3.12. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Eva’	118
Tabla 3.13. Parámetros instrumentales de color obtenidos para las manzanas ‘Eva’ frescas cortadas tratadas térmicamente.....	119
Tabla 3.14. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas ‘Princesa’	120

Tabla 3.15. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Princesa’	121
Tabla 3.16. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’	122
Tabla 3.17. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’	123
Tabla 3.18. Resultados experimentales del diseño factorial para los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas ‘Caricia’, a los 7 días.....	129
Tabla 3.19. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Caricia’	131
Tabla 3.20. Resultados experimentales del diseño factorial de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’	131
Tabla 3.21. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’	132
Tabla 3.22. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de firmeza y polifenoles de manzanas ‘Eva’, a los 7 días.....	133
Tabla 3.23. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Eva’	133
Tabla 3.24. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Eva’	135
Tabla 3.25. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Eva’	135
Tabla 3.26. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de firmeza y polifenoles de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días.....	137
Tabla 3.27. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Princesa’	138
Tabla 3.28. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’	139
Tabla 3.29. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’	139
Tabla 3.30. pH y sólidos solubles de las infusiones de yerba mate (YM).....	148
Tabla 3.31. Color de las infusiones de 2% de yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).....	148
Tabla 3.32. Color de las infusiones de 3% de yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).....	149
Tabla 3.33. Color de las infusiones de 4% yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).....	150
Tabla 3.34. Contenido de polifenoles totales (mg ÁGE/100 mL) de infusiones de yerba mate decoloradas con carbón activado.....	152

Tabla 3.35. Actividad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* (mg ÁAe/100 mL) para infusiones de yerba mate decolorada con carbón activado	153
Tabla 3.36. Actividad antioxidante determinada por el método de FRAP (μ moles Fe/100 mL) para infusiones de yerba mate decolorada con carbón activado.....	155
Tabla 3.37. Coeficientes de correlación de Pearson (R) entre los diferentes atributos estudiados de las infusiones de yerba mate	156
Tabla 3.38. Constantes de variación de los parámetros estudiados en infusiones de yerba mate (YM) en función de la concentración de carbón activado (CA)	157
Tabla 3.39. pH y sólidos solubles de los tratamientos aplicados a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.....	158
Tabla 3.40. Capacidad antioxidante (CAO) de las soluciones aplicadas a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.....	159
Tabla 3.41. pH y sólidos solubles de manzanas	160
Tabla 3.42. Parámetros instrumentales de color L^* , C_{ab}^* y h_{ab} de manzanas frescas cortadas luego de 0 y 180 min de tratadas	161
Tabla 3.43. Parámetros instrumentales de color de manzanas frescas cortadas al tiempo 0 y luego de 24 horas en cámara a 1,5°C	163
Tabla 3.44. Evaluación sensorial de manzanas frescas cortadas	166
Tabla 3.45. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para pH y actividad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ fresca cortadas.....	168
Tabla 3.46. Análisis de varianza de los resultados experimentales de pH y actividad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.....	169
Tabla 3.47. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para los cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Granny Smith’ fresca cortadas	173
Tabla 3.48. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	174
Tabla 3.49. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para pardeamiento, gusto ácido y off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ fresca cortadas	179
Tabla 3.50. Análisis de varianza de los resultados experimentales de pardeamiento, gusto ácido y off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.....	180
Tabla 3.51. Mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizados en la función de deseabilidad de Derringer para la optimización múltiple.....	187
Tabla 3.52. Concentraciones óptimas de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico.....	188
Tabla 3.53. Valores experimentales y predichos para la validación de los modelos para manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con una solución de [1,2% YM+ 0,9% ÁC + 1,0% ÁA]	190
Tabla 3.54. pH, sólidos solubles y firmeza de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	191

Tabla 3.55. Parámetros instrumentales de color de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	193
Tabla 3.56. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT), psicrotrofos, mohos y levaduras de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	197
Tabla 3.57. Atributos sensoriales de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	198
Tabla 3.58. pH, sólidos solubles y firmeza de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C... 200	200
Tabla 3.59. pH, sólidos solubles y firmeza de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 10°C.. ..	200
Tabla 3.60. Flavor característico, gusto ácido, off-flavors y off-odors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C	218
Tabla 3.61. Flavor característico, off-flavors y off-odors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 10°C.....	219
Tabla 3.62. Planes de muestro para frutas y hortalizas frescas cortadas listas para consumir	220
Tabla 3.63. Coeficientes de correlación entre los parámetros estudiados	230

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Imágenes de hortalizas (a) y frutas frescas cortadas (b) listas para consumir. ..	26
Figura 1.2. Imágenes de góndolas de productos de la IV gama tomadas de un supermercado en Fayetteville (Arkansas, EE.UU, 2014)	27
Figura 1.3. Partes de la manzana	29
Figura 1.4. Imagen de manzanas mínimamente procesadas.....	32
Figura 1.5. Diagrama de flujo del procesamiento mínimo de manzanas	34
Figura 1.6. Esquema de la reacción de pardeamiento enzimático.....	37
Figura 1.7. Compuestos polifenólicos derivados del cafeoil encontrados en el mate: ácido clorogénico, ácido 4,5-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico y ácido 3,4-dicafeoilquínico	44
Figura 2.1. Variedades de manzanas	48
Figura 2.2. Perfil de temperatura de manzana variedad ‘Eva’ durante las etapas de calentamiento en baño de agua y enfriamiento en cámara	49
Figura 2.3. Determinación gráfica del tiempo de semienfriamiento de manzanas variedad ‘Granny Smith’	51
Figura 2.4. Linealización de la Ecuación 2.8 ($\ln T^*$ en función del tiempo de enfriamiento) de manzanas variedad ‘Granny Smith’	52
Figura 2.5. Baño de agua termostatzado y con agitación.....	53
Figura 2.6. Diagrama del mínimo procesamiento aplicado a manzanas ‘Granny Smith’	61
Figura 2.7. Boleta de evaluación de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas, para estudio de aceptabilidad.....	69
Figura 2.8. pHmetro y refractómetro utilizados para la determinación del pH y los sólidos solubles, respectivamente	70
Figura 2.9. Espectrofotómetro utilizado para la medición del color	72
Figura 2.10. Representación gráfica de los espacios de color $L^*a^*b^*$ y $L^*C_{ab}^*h_{ab}$	73
Figura 2.11. Curva de calibración de ácido gálico para la determinación del contenido de polifenoles totales	74
Figura 2.12. Estructura del radical DPPH*	75
Figura 2.13. Curva de calibrado con ácido ascórbico del % de DPPH* remanente.....	77
Figura 2.14. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP en muestras de manzana	78
Figura 2.15. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP en infusiones de yerba mate.....	79
Figura 2.16. Absorbancia a 593 nm en función del tiempo de incubación a 37°C durante la puesta a punto del método de FRAP para manzanas.....	70
Figura 2.17. Oxidación del ácido L-ascórbico	81

Figura 2.18. Cromatograma de vitamina C (ÁAT) obtenido para manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas luego de 18 días de almacenamiento a 2°C.....	82
Figura 2.19. Manzanas frescas cortadas con distinto grado de desarrollo de pardeamiento utilizadas como referencia durante el entrenamiento de los jueces.....	85
Figura 2.20. Boleta de evaluación sensorial para análisis sensorial descriptivo.....	86
Figura 2.21. Curva de calibración para CO ₂	89
Figura 2.22. Curva de calibración para O ₂	90
Figura 2.23. Curva de calibración para N ₂	90
Figura 3.1. Peso (a) y diámetro (b) de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.....	92
Figura 3.2. Polifenoles totales de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.....	94
Figura 3.3. Capacidad antioxidante de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Princesa’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’.....	94
Figura 3.4. Curvas de calentamiento-enfriamiento manzanas ‘Granny Smith’ (a) y ‘Red Delicious’ (b).....	95
Figura 3.5. Curvas de calentamiento-enfriamiento manzanas ‘Caricia’ (a), ‘Eva’ (b) y ‘Princesa’ (c).....	96
Figura 3.6. Manzanas ‘Granny Smith’ (a) y ‘Red Delicious’ (b) luego de 24 h de realizado un tratamiento térmico a 45°C por 55 minutos.....	98
Figura 3.7. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención del pH (%RpH) de manzanas ‘Caricia’.....	102
Figura 3.8. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas ‘Caricia’.....	102
Figura 3.9. Gráfica de interacciones para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas ‘Caricia’.....	103
Figura 3.10. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de los sólidos solubles (%RSS) de manzanas ‘Caricia’.....	104
Figura 3.11. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de sólidos solubles de manzanas ‘Caricia’.....	104
Figura 3.12. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’.....	105
Figura 3.13. Gráfica de interacciones para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’.....	105
Figura 3.14. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de polifenoles (%RPT) de manzanas ‘Caricia’.....	106
Figura 3.15. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de polifenoles (%RPT) de manzanas ‘Caricia’.....	107
Figura 3.16. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de polifenoles de manzanas ‘Caricia’.....	107

Figura 3.17. Gráfica de efectos principales para ∂L^* de manzanas ‘Caricia’	110
Figura 3.18. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂a^* de manzanas ‘Caricia’	110
Figura 3.19. Superficie de respuesta obtenida para ∂a^* de manzanas ‘Caricia’ frescas cortadas	111
Figura 3.20. Gráfica de superficie y contorno para $\partial b^*(a)$ y ∂C_{ab}^* (b) de manzanas ‘Caricia’	112
Figura 3.21. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas ‘Eva’	114
Figura 3.22. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de acidez (%RAc) de manzanas ‘Eva’	115
Figura 3.23. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Eva’	116
Figura 3.24. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂L^* de manzanas ‘Princesa’	123
Figura 3.25. Superficie de respuesta para ∂b^* de manzanas ‘Princesa’	124
Figura 3.26. Firmeza de las muestras de manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento	126
Figura 3.27. Parámetros instrumentales de color L^* (a), a^* (b), b^* (c), C_{ab}^* (d) y h_{ab} (e) de las manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento	127
Figura 3.28. Polifenoles totales de las manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento ..	128
Figura 3.29. Diagrama estandarizado de Pareto para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’, luego de 7 días de almacenamiento	130
Figura 3.30. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de firmeza de manzanas ‘Caricia’, luego de 7 días de almacenamiento	130
Figura 3.31. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂L^* de manzanas ‘Eva’, a los 7 días de almacenamiento	136
Figura 3.32. Superficie de respuesta obtenida para ∂L^* de manzanas ‘Eva’, a los 7 días de almacenamiento	136
Figura 3.33. Superficie de respuesta obtenida para ∂L^* de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días a 1,5°C	140
Figura 3.34. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂a^* de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días a 1,5°C	141
Figura 3.35. Superficie de respuesta obtenida para ∂b^* de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días a 1,5°C	141
Figura 3.36. Superficie de respuesta obtenida para ∂C_{ab}^* de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días a 1,5°C	142
Figura 3.37. Gráfica de efectos principales para ∂h_{ab} de manzanas ‘Princesa’, a los 7 días a 1,5°C	142
Figura 3.38. Contenido de polifenoles totales de infusiones de yerba mate (YM)	146

Figura 3.39. Capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate (YM), por el método del radical DPPH*	146
Figura 3.40. Capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate (YM), por el método de FRAP	147
Figura 3.41. Parámetro de color Croma (C_{ab}^*) de las infusiones de yerba mate (YM)	147
Figura 3.42. Infusiones de 2,0% de yerba mate decoloradas con 0,0% a 1,0% de carbón activado.....	150
Figura 3.43. Variación del parámetro instrumental de color L^* de infusiones de yerba mate (YM) decoloradas con distintas concentraciones de carbón activado (CA).....	151
Figura 3.44. Variación del parámetro instrumental de color C_{ab}^* de infusiones de yerba mate (YM) decoloradas con distintas concentraciones de carbón activado (CA).....	151
Figura 3.45. Variación del contenido de polifenoles totales de infusiones de yerba mate (YM) decolorados con distintas concentraciones de carbón activado (CA).....	153
Figura 3.46. Variación de la capacidad antioxidante de infusiones de yerba mate determinada por el método del DPPH*, en función de la concentración de carbón activado.....	154
Figura 3.47. Variación de la capacidad antioxidante de infusiones de yerba mate determinada por el método de FRAP, en función de la concentración de carbón activado.....	155
Figura 3.48. Parámetro instrumental de color a^* de manzanas frescas cortadas	161
Figura 3.49. Diferencia total de color (ΔE_{ab}^*) de manzanas frescas cortadas.....	162
Figura 3.50. Parámetros instrumentales de color de manzanas frescas cortadas al tiempo 0 y luego de 24 horas en cámara a 1,5°C	163
Figura 3.51. Contenido de polifenoles totales de manzanas frescas cortadas	164
Figura 3.52. Actividad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* de manzanas frescas cortadas	165
Figura 3.53. Actividad antioxidante por método de FRAP, de manzanas frescas cortadas.	165
Figura 3.54. Diagrama de Pareto estandarizado para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método del radical DPPH*	170
Figura 3.55. Superficie de respuesta obtenida para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, determinada por el método del radical DPPH*. $C_{AC} = 0,5\%$	170
Figura 3.56. Diagrama de Pareto estandarizado para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método de FRAP	171
Figura 3.57. Gráfica de efectos principales para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método de FRAP	171
Figura 3.58. Superficie de respuesta obtenida para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, determinada por el método de FRAP. $C_{AC} = 0,5\%$	172

Figura 3.59. Diagrama de Pareto estandarizado para ΔL^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante	174
Figura 3.60. Gráfica de efectos principales para ΔL^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	175
Figura 3.61. Superficie de respuesta obtenida para ΔL^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{YM} = 1,0\%$	175
Figura 3.62. Diagrama de Pareto estandarizado para Δa^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	176
Figura 3.63. Gráfica de efectos principales para Δa^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	176
Figura 3.64. Gráfica de interacciones para Δa^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.....	177
Figura 3.65. Superficie de respuesta obtenida para Δa^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. (a) $C_{AC} = 0,0\%$, (b) $C_{AC} = 1,0\%$	177
Figura 3.66. Diagrama de Pareto estandarizado para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	180
Figura 3.67. Gráfica de efectos principales para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	181
Figura 3.68. Gráfica de interacciones para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	181
Figura 3.69. Superficie de respuesta obtenida para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{YM} = 1,0\%$	182
Figura 3.70. Diagrama de Pareto estandarizado para el gusto ácido de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	182
Figura 3.71. Superficie de respuesta obtenida para el gusto ácido de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{AA} = 0,5\%$	183
Figura 3.72. Diagrama de Pareto estandarizado para off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	184
Figura 3.73. Gráfica de efectos principales para off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes	184
Figura 3.74. Superficie de respuesta obtenida para los off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{AA} = 0,5\%$	184
Figura 3.75. Superficie de respuesta estimada para la función Deseabilidad	189
Figura 3.76. Contenido de polifenoles de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	194
Figura 3.77. Contenido de ácido ascórbico y ácido ascórbico total de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	195
Figura 3.78. Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP, de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	196

Figura 3.79. Gráfico de araña para los atributos sensoriales: apariencia general, pardeamiento, flavor característico, off-flavors y off-odors, de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’	198
Figura 3.80. Parámetro instrumental de color L^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	202
Figura 3.81. Parámetro instrumental de color a^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	203
Figura 3.82. Parámetro instrumental de color C_{ab}^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	204
Figura 3.83. Parámetro instrumental de color h_{ab} de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	207
Figura 3.84. Polifenoles totales de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	208
Figura 3.85. Ácido ascórbico reducido de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	210
Figura 3.86. Ácido ascórbico total de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).211	
Figura 3.87. Capacidad antioxidante, determinada por el método del radical DPPH*, de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	213
Figura 3.88. Capacidad antioxidante (CAO) determinada por el método de FRAP, de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	214
Figura 3.89. Apariencia general de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b) .215	
Figura 3.90. Pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).	216
Figura 3.91. Aerobios mesófilos totales (AMT) de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	222
Figura 3.92. Microorganismos psicrotrofos de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	223
Figura 3.93. Mohos de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	224
Figura 3.94. Levaduras de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).....	225

Figura 3.95. Concentración de oxígeno y dióxido de carbono en envases con manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b)	227
Figura 3.96. Gráficos de frecuencia de aceptabilidad de la muestra T en los atributos color (a) y sabor (b)	231
Figura 3.97. Gráficos de frecuencia de aceptabilidad de la muestra T en los atributos textura (a) y agrado general (b)	232
Figura 3.98. Puntajes promedio de agrado general de la muestra T por franja etaria	233
Figura 3.99. Intención de compra de la muestra T por franja etaria	234

ABREVIATURAS

%R: porcentaje de retención.

δa^* : cambio porcentual del parámetro a^* .

δb^* : cambio porcentual del parámetro b^* .

δC_{ab}^* : cambio porcentual del parámetro C_{ab}^* .

δh_{ab} : cambio porcentual del parámetro h_{ab} .

δL^* : cambio porcentual del parámetro L^* .

Δa^* : cambio del parámetro a^* .

Δb^* : cambio del parámetro b^* .

ΔE_{ab} : diferencia total de color.

ΔL^* : cambio del parámetro L^* .

ÁA: ácido ascórbico.

ÁAe: ácido ascórbico equivalente.

ÁAT: ácido ascórbico total.

Ac: acidez.

ÁC: ácido cítrico.

ÁDHA: ácido L-dehidroascórbico.

AEAC: capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.

ÁGE: ácido gálico equivalente.

AMT: aerobios mesófilos totales.

C: muestras control.

CA: carbón activado.

C_{AA} : concentración de ácido ascórbico.

C_{AC} : concentración de ácido cítrico.

C_{CA} : concentración de carbón activado.

CAO: capacidad antioxidante.

CYM: concentración de yerba mate.

d: función de deseabilidad.

D: deseabilidad global.

F: firmeza.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FDA: Food and Drug Administration.

FRI: factor de respuesta del componente i.

GRAS: generally recognized as safe.

IC₅₀: concentración requerida para disminuir al 50% la concentración del radical DPPH*.

MP: materia prima.

NS: no significativo.

PAL: fenilalanina-amonió liasa.

PCA: agar para recuento en placa.

PET: tereftalato de polietileno.

PG: poligalacturonasa.

PME: pectinmetilesterasa.

POD: peroxidasa.

PPO: polifenol oxidasa.

PT: polifenoles totales.

RSM: metodología de superficie de respuesta.

SS: sólidos solubles.

T: muestras tratadas con solución antioxidante.

T₀: temperatura inicial.

t_{1/2}: tiempo de semienfriamiento.

T*: temperatura adimensional.

T_{aire}: temperatura del aire de enfriamiento.

T_{baño}: temperatura del baño de agua de calentamiento.

TCD: detector de conductividad térmica.

T_{producto}: temperatura del producto.

TT: muestras tratadas térmicamente.

UFC: unidades formadoras de colonias.

YM: yerba mate.

Bi: número de Biot.

Fo: número de Fourier.

k: conductividad térmica.

ρ: densidad.

cp: calor específico.

α: difusividad térmica.

h: coeficiente de transferencia de calor.

RESUMEN

El objetivo general de esta Tesis fue evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves y antioxidantes de origen natural ricos en polifenoles, sobre la calidad y potencial saludable de manzanas frescas cortadas.

En primer lugar se determinaron las características fisicoquímicas, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de dos variedades de manzana de gran importancia comercial y alto requerimiento de horas de frío: 'Granny Smith' y 'Red Delicious' y tres variedades de producción regional y bajo requerimiento de horas de frío: 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa'. De acuerdo a los resultados obtenidos, 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa' tienen pesos y tamaños significativamente menores, todas las variedades presentan un contenido de sólidos solubles similar, 'Granny Smith' y 'Red Delicious' presentan el menor y mayor pH, respetivamente, y 'Caricia' y 'Red Delicious' son significativamente menos firmes que 'Granny Smith'. A su vez, 'Red Delicious' y 'Eva' tienen el mayor y menor contenido de polifenoles totales, respectivamente, y 'Eva' la menor capacidad antioxidante.

Se realizaron ensayos preliminares para evaluar la respuesta de las cinco variedades a los tratamientos térmicos suaves, y se seleccionaron las variedades 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa', para modelar el efecto del tiempo y la temperatura del tratamiento sobre las características fisicoquímicas y contenido de polifenoles totales de manzanas frescas cortadas, ya que 'Red Delicious' y 'Granny Smith' presentaron pardeamiento y pérdidas de firmeza y polifenoles totales, por efecto del tratamiento térmico.

El efecto del tiempo y la temperatura de calentamiento sobre las características fisicoquímicas y los polifenoles totales de las tres variedades seleccionadas mínimamente procesadas, luego de 1 y 7 días a 1,5°C, dependió de la variedad. A las 24 horas de realizado el tratamiento térmico se observó que éste incrementó el contenido de polifenoles totales en las tres variedades, fue efectivo en reducir el pardeamiento enzimático de 'Eva', y el efecto sobre la firmeza dependió de la variedad y condiciones del tratamiento. Los resultados obtenidos a los 7 días, indican que para 'Caricia' y 'Princesa', los tratamientos no tuvieron un efecto beneficioso sobre la firmeza, el color ni el contenido de polifenoles. Sin embargo, los tratamientos térmicos entre 40 y 50°C durante 20 a 90 minutos, aplicados a 'Eva', aumentaron los polifenoles totales y redujeron el pardeamiento.

El antioxidante natural elegido para la aplicación en manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas fue la yerba mate (YM), por su alto contenido de polifenoles totales. Ésta se combinó con ácidos cítrico (ÁC) y ascórbico (ÁA), de acuerdo a los resultados obtenidos en una evaluación preliminar de su efecto sobre la calidad de manzanas frescas cortadas. Se obtuvieron modelos matemáticos para representar los cambios en las características fisicoquímicas, atributos sensoriales y capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas, en función de las concentraciones de YM, ÁC y ÁA. A través de la metodología de optimización de respuestas múltiples, se obtuvieron las concentraciones óptimas, que permitieron minimizar el desarrollo de pardeamiento y maximizar la actividad antioxidante de las manzanas, sin afectar su calidad sensorial. Las concentraciones óptimas de YM, ÁC y ÁA obtenidas fueron: 1,2%; 0,9% y 1,0%, respectivamente.

Se evaluó el efecto del tratamiento químico aplicado en las concentraciones óptimas durante el almacenamiento a 2 y 10°C y se concluyó que la solución retardó el desarrollo de pardeamiento enzimático sin detrimento de su calidad sensorial, aportando compuestos con actividad antioxidante. El almacenamiento a 2°C retrasó el crecimiento de aerobios mesófilos totales, psicrotrofos, mohos y levaduras, la pérdida de calidad sensorial y de compuestos bioactivos.

Por último, se evaluó la aceptabilidad sensorial de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante óptima. A más del 78% de los consumidores les gustó el color, sabor y textura de las manzanas y el 89% de los encuestados manifestó que compraría un producto similar.

1. Introducción

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS CORTADAS

Las frutas y hortalizas frescas son componentes esenciales de la dieta humana y existe evidencia considerable de los beneficios nutricionales y para la salud asociados a su consumo, debido a su contenido en vitaminas, minerales, fibras y compuestos biológicamente activos (Cassano et al., 2003; Cano et al., 2005; Alegre et al., 2011). La introducción en el mercado de frutas y hortalizas mínimamente procesadas es una herramienta de gran importancia para facilitar la incorporación de estos alimentos a la dieta del consumidor ya que ofrecen conveniencia en cuanto al espacio, tiempo de preparación y características nutricionales.

Además de la concientización de los consumidores sobre la alimentación saludable, los cambios en el estilo de vida de las personas han generado una demanda creciente de frutas y vegetales mínimamente procesados, con atributos de calidad similares a los de los productos frescos (Soliva-Fortuny et al., 2001).

La demanda de alimentos convenientes, frescos y saludables ha generado en la industria la necesidad de aplicar nuevas técnicas de preservación, que satisfagan los requerimientos de alimentos con menos conservantes, mayor valor nutricional y atributos sensoriales similares al del producto fresco. Las tecnologías y técnicas tradicionales de preservación afectan severamente las características sensoriales y el valor nutricional, por lo que las técnicas de mínimo procesamiento han surgido para reemplazarlas y retener la calidad nutricional y sensorial de frutas y hortalizas (Balla y Farkas, 2006).

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, también llamadas productos de la IV gama, se caracterizan por ser vegetales frescos cortados envasados, que presentan la ventaja para el consumidor de no requerir, o requerir un procesamiento mínimo, antes de su consumo. Estos productos deben satisfacer la funcionalidad esperada sin presentar cambios significativos de sus propiedades “de fresco” y su valor nutricional durante su vida útil (Alegria et al., 2010).

Las operaciones aplicadas para su elaboración se definen como aquellos procedimientos, tales como lavado, clasificación, acondicionamiento, pelado, cortado o rebanado, que no afectan significativamente la calidad sensorial de fruta u hortaliza fresca (Chung y Moon, 2009).



Figura 1.1. Imágenes de hortalizas (a) y frutas frescas cortadas (b) listas para consumir.

El mínimo procesamiento de frutas y hortalizas tiene dos propósitos: mantener el producto fresco, sin perder su calidad nutricional y microbiológica, y asegurar una vida útil del producto suficiente para hacer factible su distribución, dentro de una determinada región de consumo (Laurila y Ahvenainen, 2002).

1.2. MERCADO DE PRODUCTOS CUARTA GAMA

El mercado de cuarta gama visualiza la utilización de nuevas tecnologías con el propósito de ofrecer productos con valor agregado, que sean convenientes, estén listos para consumir y garanticen calidad y seguridad durante su vida de anaquel (González-Aguilar et al., 2004).

Uno de los factores importantes que ha influido en el incremento de la demanda de los vegetales frescos cortados, es la incorporación de la mujer al mercado laboral, lo que ha provocado un aumento de las comidas fuera del hogar y la búsqueda de alimentos listos para consumir como una forma de ahorrar tiempo y esfuerzo. El incremento en la demanda de estos productos ha movilizado a un sector muy importante de la industria de alimentos. Se han creado nuevas empresas en diferentes regiones, las cuales están continuamente en expansión para poder satisfacer la demanda de los consumidores (González-Aguilar et al., 2004).

Los vegetales listos para usar surgieron en Estados Unidos en las décadas del 70-80, principalmente para atender la demanda de alimentos institucionales y la industria de comidas rápidas, por lo tanto, el consumidor norteamericano es el mayor demandante de este tipo de productos (Piagentini, 1999; Soleno Wilches, 2004). En la década del 90, los productos frescos cortados tuvieron un gran crecimiento, y en el 2006 representaban el 10% del mercado de frutas

y hortalizas en Estados Unidos (Saftner et al., 2005). En los años 2006 y el 2010 las ventas de frutas y hortalizas frescas cortadas, aumentaron en un 10,9 y 18%, respectivamente y, debido a la crisis económica, descendieron en los años 2008 y 2009. Sin embargo, el desarrollo sostenido de nuevos productos, el hecho de ser una alternativa saludable y la conveniencia de precio, hacen creer que las ventas de estos productos continuarán siendo exitosa (Anónimo, 2012).

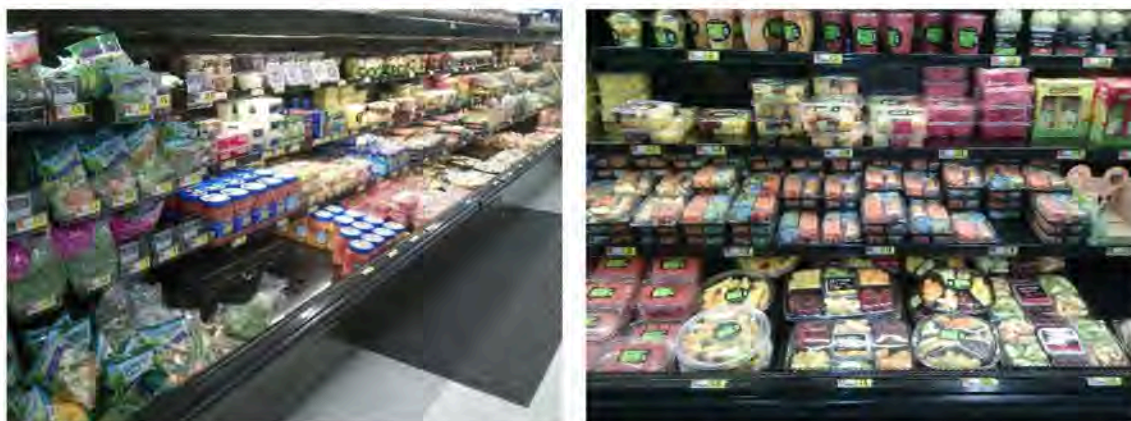


Figura 1.2. Imágenes de góndolas de productos de la IV gama tomadas de un supermercado en Fayetteville (Arkansas, EE.UU, 2014).

De acuerdo a datos de 2004, mientras que un norteamericano promedio llega a consumir 30 kg de vegetales mínimamente procesados al año, la media europea es de 3 kg por persona al año. Sin embargo, las diferencias entre países europeos son muy sustanciales. En el Reino Unido se llega a 12 kg anuales por habitante, en Francia, que ocupa la segunda posición, se consumen 6 kg y en Italia alrededor de 4 kg (Solenio Wilches, 2004).

En 2005, el consumo per cápita de frutas y hortalizas frescas cortadas en España, estuvo entre 1,5 y 2 kg, que se puede considerar bajo en comparación con el consumo en Estados Unidos o Francia. Dentro de este sector, las hortalizas dominan el mercado, principalmente lechuga cortada y mezclas de ensaladas, seguidas por espinaca y acelga. La introducción de las frutas cortadas ha sido más lenta, por tratarse de productos más perecederos; sin embargo, ya se pueden encontrar una gran variedad de frutas en el mercado incluyendo trozos de pera, manzana, sandía y kiwi (Montero-Calderón et al., 2009).

La industria de vegetales frescos cortados en Latinoamérica está muy poco desarrollada en comparación con Europa y Estados Unidos. Por otro lado, el mercado latinoamericano de alimentos ha registrado un rápido crecimiento en la demanda internacional, comparado con el lento crecimiento de mercados más maduros como el europeo, norteamericano y oriental. Uno de los principales factores que ha impulsado tal crecimiento en Latinoamérica es el desarrollo

de las diversas cadenas de supermercados, que juegan un papel importante en la estimulación de las ventas de frutas y verduras frescas cortadas (González-Aguilar et al., 2004).

En Argentina en el año 2000, los productos hortícolas mínimamente procesados alcanzaron niveles de participación en los supermercados cercanos al 10% sobre la facturación total de frutas y hortalizas frescas; luego de la crisis económica de los años 2001 y 2002 se redujo casi al 5% (Alonso y Chiesa, 2009). A su vez, en 2006, los niveles de facturación de los productos mínimamente procesados alcanzaron 47 millones de pesos para 14 millones de unidades vendidas, en Argentina. Esto implica un aumento del 60% en el precio, mientras que los volúmenes de venta seguían un 50% por debajo de los niveles del año 2000. La participación de los productos mínimamente procesados en la venta de frutas y hortalizas de los supermercados e hipermercados alcanzó en 2009 el 8,86% (Alonso y Chiesa, 2009).

Actualmente, en Uruguay, las frutas y hortalizas cuarta gama constituyen un rubro menor dentro de la oferta de frutas y hortalizas frescas. El hecho de que se puedan consolidar como una opción atractiva y a desarrollar por parte de los supermercados depende de que se solucione el problema de su corta vida útil y de que se puedan generar mecanismos que den garantías a los consumidores sobre la calidad e inocuidad del producto que compran.

En Uruguay, las empresas que se dedican a la elaboración de frutas y hortalizas frescas cortadas abastecen a cadenas de supermercados y se caracterizan por tener una capacidad de manejo aproximada de 1000-3000 Kg de materia prima por día y un rendimiento del 60-80%. Los principales productos disponibles en el mercado uruguayo son: papa (pelada, en bastones, en cubos, en cuartos), zanahoria (pelada, rallada, en cubos), zapallo y boniato (en trozos), lechuga (deshojada y cortada), repollo (en tiras), ensaladas y manzana (pelada y cortada) (Silveira, 2013).

1.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS MANZANAS

La manzana doméstica común corresponde al género *Malus*, que pertenece a la subfamilia Maloidae de la familia Rosaceae. Posiblemente se trate de un híbrido complejo actualmente designado como *Malus x domestica* (Borkh.) o *Malus domestica* (Borkh). El origen y los ancestros de *Malus x domestica* siguen siendo desconocidos y la dispersión, cultivo y usos de la manzana se fue generalizando a lo largo de los milenios, con la expansión de imperios y colonizaciones a diferentes regiones del mundo (Sinha, 2006; Castro et al., 2014).

La producción mundial de la manzana ha tenido un continuo crecimiento desde la Segunda Guerra Mundial, con una breve interrupción en la década de 1980. Desde ese momento, China aportó todo el aumento en la superficie cultivada, incrementando su participación en la producción mundial, del 10,7% en 1990 a 36,7% en 2000. La manzana es una de las frutas más ampliamente cultivadas. De acuerdo a la Food and Agriculture Organization (FAO), su producción en 2002 se estimaba en 57 millones de toneladas, siendo Estados Unidos y China los principales productores (Castro et al., 2014; Sinha, 2006).

Argentina es el primer productor de manzanas de América del Sur, con alrededor de 1 millón de toneladas, principalmente en las zonas de Río Negro, Neuquén, Mendoza, Buenos Aires y Chubut. Los cultivares predominantes son ‘Red Delicious’ (junto con sus clones representa el 66% de la producción) y ‘Granny Smith’ (19%), seguidas de ‘Gala’, ‘Golden Delicious’, ‘Rome Beauty’, ‘Fuji’ y ‘Braeburn’ (Seipel et al., 2009; Castro et al., 2014).

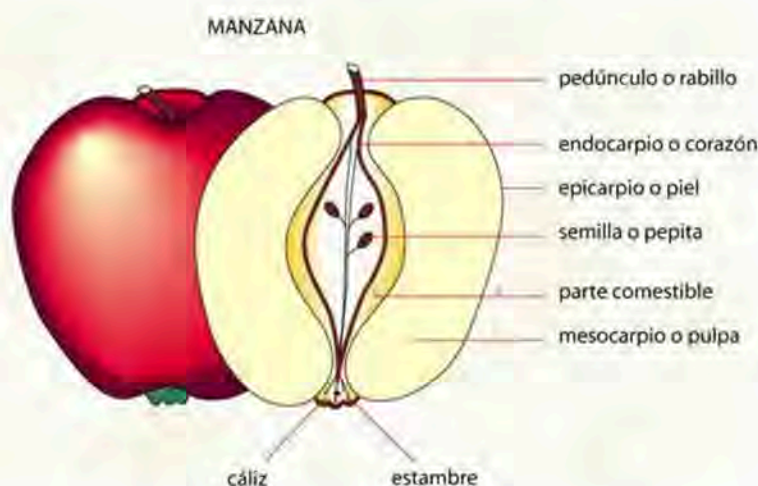


Figura 1.3. Partes de la manzana.

La producción de manzana en Uruguay se concentra principalmente en la zona sur del país, particularmente en los departamentos de Canelones, Montevideo, Colonia y San José. En la campaña 2009-2010, la producción de manzana en Uruguay fue de 52.226 toneladas, de las cuales el 56,3% correspondió a ‘Red Delicious’ y sus clones, el 19,5% a ‘Gala’ y el 12,2% a ‘Granny Smith’ (Rava et al., 2011).

Desde el punto de vista comercial, las características más importantes de los frutos son el tamaño, la forma, las características sensoriales y el porcentaje de cobertura con el color característico del cultivar. Tanto el tamaño de los frutos como su forma y color, están

determinados por el cultivar, aunque pueden variar con las prácticas de cultivo (Castro et al., 2014).

1.3.1. Variedades

Existen más de 7500 variedades conocidas de manzanas. En Argentina, las principales variedades cosechadas son 'Red Delicious' y sus clones; 'Gala' y sus clones y 'Granny Smith'. Un pequeño porcentaje de la producción se reparte entre 'Pink Lady', 'Rome Beauty', 'Golden Delicious', 'Fuji' y 'Braeburn'. Aunque aún es incipiente, se registra un proceso de cambio varietal como respuesta a las preferencias del mercado mundial (Seipel et al., 2009).

La principal limitante para el cultivo de manzano en regiones más templadas de Argentina, como la región central de la Provincia de Santa Fe, era el requerimiento de horas de frío. Las variedades menos exigentes originalmente necesitaban un mínimo de 700 horas de frío al año, pero como resultado del mejoramiento genético, existen variedades con exigencias menores a las 400-500 horas de frío (Seipel et al., 2009). Actualmente existe una gran variedad de cultivares de manzanos de bajos requerimientos de frío que fueron desarrollados principalmente en Israel, EE.UU., Japón, Brasil y México (Castro et al., 2014).

Los principales cultivares de bajo requerimiento de frío utilizados en Argentina son 'Anabela', 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa', todos desarrollados en Brasil. La producción se distribuye en las provincias de Córdoba, Misiones y Santa Fe como una alternativa productiva para la región. Su producción y superficie cultivada es aún pequeña, sin embargo es posible observar un aumento paulatino de la misma (Castro et al., 2014). Dichas variedades tienen la ventaja de que se cosechan en verano, pero antes que las de otras regiones, época en que disminuye la oferta de manzanas provenientes del sur del país (Río Negro y Neuquén) (Seipel et al., 2009).

1.3.2. Compuestos fenólicos

Desde el punto de vista nutricional, la manzana es una de las frutas más completas. Se ha indicado que contiene niveles elevados de compuestos biológicamente activos entre los cuales se encuentran los compuestos fenólicos, que comprenden flavonoides como la quercetina, flavonas, flavonoles y flavanoles; ácido hidroxicinámico y ácido clorogénico (Martínez-Valverde et al., 2000). La ingesta diaria de manzanas está relacionada con la disminución del riesgo de aparición de cáncer tanto de próstata como hígado, colon y pulmones, así como con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares. Algunos de estos

beneficios estarían asociados a la presencia de polifenoles y la actividad antioxidante vinculada a los mismos (Palomo et al., 2010).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas que se biosintetizan a través de la vía del ácido shikímico. Existe gran variabilidad en su estructura, el grupo de los polifenoles incluye tanto compuestos simples (por ejemplo el ácido hidroxibenzoico) como grandes polímeros (taninos condensados o taninos hidrolizables con alto peso molecular, por ejemplo) (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Es necesario tener en cuenta que el contenido de polifenoles en frutas y verduras varía ampliamente en función de la especie, variedad, estación del año, región de la que provenga el vegetal, manejo postcosecha (estrés y daño mecánico, así como la presencia de etileno estimulan el metabolismo de compuestos fenólicos en el tejido vegetal) (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Además, la concentración de polifenoles disminuye a medida que los frutos maduran.

El papel de los polifenoles en la alimentación engloba aspectos bien diferentes. Por un lado, son compuestos con notable repercusión en la calidad sensorial del alimento, ya que influyen, por ejemplo, en el flavor y la apariencia. Los ácidos fenólicos proporcionan acidez, las dihidrochalconas sabor dulce, la naringina (flavona) amargor y los taninos son responsables de la astringencia de muchos productos (Martín, 2011). Algunos fenoles, especialmente aquellos volátiles, contribuyen al flavor y el aroma. Los ejemplos de estos compuestos incluyen vainillina, eugenol e isoeugenol. Los polifenoles, también juegan un rol importante en la apariencia visual de las frutas. Las antocianinas son los pigmentos mayoritariamente responsables de los colores azul, violeta y rojo (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Por otro lado, la presencia de compuestos polifenólicos puede tener una connotación negativa en la apariencia de frutas y hortalizas (principalmente las frescas cortadas). Esto se debe a que los polifenoles, tanto monohidroxifenoles como orto-dihidroxifenoles, son sustratos de la enzima polifenol oxidasa (PPO), que cataliza la reacción de pardeamiento (Tomás-Barberán y Espín, 2001). En esta reacción se forman compuestos amarronados, que son una de las principales causas de la pérdida de calidad en vegetales mínimamente procesados.

1.3.3. Manzanas frescas cortadas

Una de las maneras de incrementar el consumo de manzanas dentro de la población, así como el de otras frutas, es a través de la introducción en los mercados de los productos

mínimamente procesados con presentación, apariencia y sabor atractivos (Pirovani et al., 2006; Rico et al., 2007).

Las manzanas frescas cortadas han surgido recientemente como snacks en locales de venta de comida, en programas de alimentación escolar y para consumo familiar (Guan y Fan, 2010). Para las personas activas, las manzanas frescas cortadas constituyen una forma práctica y con bajo aporte de calorías, de consumir frutas “al paso” (Abbott et al., 2004).



Figura 1.4. Imagen de manzanas mínimamente procesadas.

El procesamiento mínimo de manzanas involucra las siguientes etapas (Figura 1.5):

- **Recepción, selección y enfriamiento.**

La selección y clasificación por tamaño es extremadamente importante, ya que los equipos de corte son calibrados para cortar un tamaño específico de manzana. Después de la selección, los frutos se enfrían hasta una temperatura cercana a los 0°C. Los métodos de enfriamiento más comunes son: aire frío forzado y agua.

Las frutas que presenten podredumbres o daños mecánicos como cortes, golpes o magulladuras, deben excluirse al momento de la selección. A su vez deben eliminarse los frutos que no son adecuados para el mínimo procesamiento, en general manzanas con mayor contenido de sólidos solubles, firmeza y acidez titulable, tendrán mayor firmeza y mejores atributos de calidad, luego del procesamiento.

- **Sanitización de las manzanas enteras.**

Las manzanas deben lavarse antes de la operación de corte, para minimizar las posibilidades de contaminación cruzada de las superficies cortadas con los microorganismos presentes en la superficie de los frutos. Es importante que la temperatura del agua de lavado sea

similar a la temperatura en el centro de las manzanas, para evitar que éstas se contraigan y absorban agua y microorganismos.

Los sanitizantes químicos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration de los Estados Unidos) para el agua de lavado de vegetales mínimamente procesados son: hipoclorito de sodio o calcio, cloro gaseoso, dióxido de cloro, ácido peracético, peróxido de hidrógeno y ozono.

- **Pelado y corte.**

El pelado consiste en separar la piel de la manzana, y es importante que durante esta etapa se minimicen los daños al tejido.

Los sistemas de corte para manzanas mínimamente procesadas son relativamente simples y emplean láminas radiales montadas adyacentes a un cilindro central que remueve el centro, realizando un corte en octavos (Toivonen, 2007).

- **Desinfección después del corte.**

El lavado está indicado para remover fluidos celulares producidos en las operaciones de pelado y corte, así como también para remover microorganismos alterantes, responsables de la pérdida de calidad del producto, y patógenos, que podrían suponer un riesgo para la salud del consumidor.

- **Tratamiento químico.**

Posteriormente, los trozos de manzana deben ser tratados con formulaciones especiales para evitar principalmente el pardeamiento enzimático.

- **Envasado.**

Luego de la aplicación de inhibidores del pardeamiento, los trozos de manzana son escurridos o secados con aire forzado, antes de su envasado. Existen diversos tipos de envases para manzanas mínimamente procesadas pero los más comunes son bolsas de films de plástico flexibles y bandejas transparentes de poliestireno.

- **Almacenamiento.**

Las manzanas mínimamente procesadas deben ser almacenadas en cámaras con temperaturas de refrigeración próximas a los 0°C. La vida útil de estos productos decrece exponencialmente con la temperatura de almacenamiento.



Figura 1.5. Diagrama de flujo del procesamiento mínimo de manzanas.

Las características de calidad requeridas para las manzanas frescas cortadas difieren de aquellas que se necesitan para el mercado de fresco. El desarrollo de manzanas mínimamente procesadas requiere una reconsideración de la selección del cultivar así como un desarrollo del método de preparación y almacenamiento (Abbott et al., 2004).

1.4. ATRIBUTOS DE CALIDAD DE FRUTAS FRESCAS CORTADAS

La calidad de frutas y hortalizas frescas cortadas es una combinación de parámetros que incluye apariencia, textura, sabor y valor nutricional (Kader, 2002). Si bien, generalmente los consumidores juzgan su calidad en el momento de la compra a través de atributos sensoriales visuales, evaluando principalmente la apariencia y frescura, las adquisiciones posteriores dependen de la satisfacción alcanzada en términos de textura y sabor, sin dejar de interesarse en su calidad nutricional y seguridad (Rico et al., 2007).

El color juega un rol clave en la elección, preferencia y aceptabilidad de los alimentos y puede incluso influir en la percepción de otros atributos de calidad, como el sabor. Junto con la textura, es uno de los principales atributos que se consideran cuando se evalúa la frescura de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

Otro atributo de calidad determinante de estos productos es la textura. El consumidor evalúa la textura primero a través de los sentidos del tacto y, posteriormente, por su percepción en la boca, momento en que valora la dureza o firmeza, elasticidad, harinosidad y jugosidad. La firmeza está determinada principalmente por la anatomía física del tejido, particularmente el tamaño y forma de la célula, el espesor de la pared celular y la adhesión entre células, junto con la turgencia (Toivonen y Brummell, 2008). La firmeza de los frutos es sólo uno de los parámetros que constituyen la textura. No obstante, la firmeza medida por ensayos de penetración continúa siendo el método más utilizado para reflejar las características texturales de las frutas.

Actualmente, la elección del consumo de frutas y hortalizas frescas cortadas también considera el aporte que hacen a la dieta respecto a vitaminas, aminoácidos, azúcares y otros constituyentes como los compuestos fenólicos y otros antioxidantes. El importante rol que juegan los antioxidantes en el mantenimiento de la salud, ha encaminado las investigaciones hacia el estudio del efecto del procesamiento y almacenamiento en su retención. Sin embargo, las características nutricionales, así como la presencia de compuestos fitoquímicos en frutas frescas cortadas, han sido significativamente menos estudiadas ya que no se consideran parámetros de calidad comercial. Los trabajos de investigación realizados sobre la calidad

nutricional de estos productos determinan la capacidad antioxidante y/o la concentración de vitamina C y compuestos fenólicos totales, dado que se ha demostrado que éstos son los principales responsables de la alta capacidad antioxidante de frutas y hortalizas en general (Proteggente et al., 2002).

1.4.1. Factores que intervienen en la pérdida de calidad

La comprensión de los procesos que ocasionan el deterioro de las frutas frescas cortadas después del procesamiento es esencial para desarrollar tecnologías que permitan extender su vida útil y mantener su calidad durante el procesado y distribución.

La vida útil de los productos frescos cortados es muy inferior, si se la compara con la de frutas y hortalizas intactas, porque los frescos cortados sufren un daño en su tejido. Usualmente, el daño en el tejido de una planta induce un incremento en la respiración y producción de etileno, pardeamiento enzimático, degradación de la membrana lipídica, producción de metabolitos secundarios y pérdida de agua. Entre estas consecuencias negativas, el pardeamiento enzimático es considerado una de las principales limitantes de la vida útil de los productos frescos cortados (Chung y Moon, 2009).

1.4.1.1. Pardeamiento enzimático

Uno de los principales cambios de color (o apariencia) que se producen en frutas frescas cortadas, es consecuencia del pardeamiento generado por enzimas oxidativas, una de las causas más importantes en la pérdida de calidad (Piagentini et al., 2002; Rico et al., 2007; Toivonen y Brummell, 2008). Las enzimas y los sustratos involucrados en esta reacción se encuentran normalmente localizados en diferentes compartimentos celulares, separados por membranas semipermeables, y su transferencia está activamente regulada. El daño físico que se produce al tejido vegetal durante el procesamiento mínimo, no sólo daña físicamente las membranas celulares lípido-proteicas, sino que también altera sus funciones de manera que compuestos incompatibles se mezclan y producen reacciones incontrolables y no deseadas. Por otra parte, el daño producido al tejido induce la biosíntesis de algunas enzimas o sustratos involucrados en las reacciones de amarronamiento. Así, la intensidad del pardeamiento en diversos tejidos puede estar afectada por las actividades relativas de las oxidasas y las concentraciones de sustratos (Toivonen y Brummell, 2008). Existen varias enzimas importantes involucradas en el amarronamiento enzimático, tales como la polifenol oxidasa (PPO), la peroxidasa (POD) y la fenilalanina-amonio liasa (PAL) que oxidan los compuestos fenólicos solubles para producir ortoquinonas. Estas últimas condensan y reaccionan no enzimáticamente con numerosos

constituyentes celulares como los aminoácidos, compuestos fenólicos y entre sí, para producir pigmentos de estructura indeterminada, denominados genéricamente melaninas (Sapers, 1993; Castañer et al., 1999). La hidroxilación de monofenoles es el paso lento o determinante de la velocidad de pardeamiento. Las o-quinonas pueden retrogradarse a los compuestos fenólicos iniciales en presencia de un compuesto reductor.

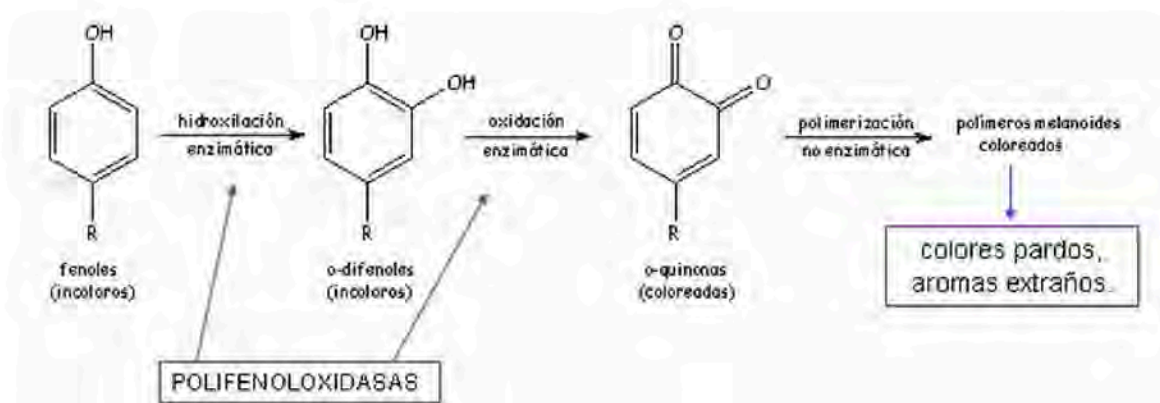


Figura 1.6. Esquema de la reacción de pardeamiento enzimático.

Los sustratos fenólicos de la PPO presentes en la manzana son: ácido clorogénico (en la pulpa), catecol, catequina (en la piel), ácido cafeico, 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), ácido 3,4-dihidroxibenzoico, p-cresol, 4-metilcatecol, leucocianidina, ácido p-curámico y glicósidos de flavonol (Lozano, 2000).

El pardeamiento enzimático generalmente resulta en pérdida de la calidad nutricional, funcional y sensorial (pérdida de polifenoles, oscurecimiento, y desarrollo de off-flavors). El grado de pardeamiento depende de varios factores: pH, temperatura, actividad enzimática, presencia de oxígeno, cobre y hierro y concentración de sustratos (Santerre et al., 1988).

1.4.1.2. Pérdida de firmeza

La disminución de la firmeza es otra causa de pérdida de calidad en las frutas frescas cortadas. El ablandamiento del tejido en la fruta fresca es una consecuencia de la maduración que causa la despolimerización y desesterificación de los componentes de la pared celular que resulta en la pérdida de la cohesión (Quiles et al., 2007).

Estos cambios de textura también ocurren durante el procesamiento y almacenamiento, por la descompartimentación de enzima y sustrato. Enzimas como la pectinmetilesterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) están estrechamente relacionadas con la degradación de la textura de

frutas. La PME desesterifica la pectina, convirtiéndola en pectina de bajo metoxilo o ácido péctico. La PG hidroliza los enlaces glicosídicos de las sustancias pécticas, reduciendo el peso molecular del polímero y, por lo tanto, influyendo en la textura (Yildiz y Baysal, 2006).

La velocidad con la que las manzanas se ablandan durante el almacenamiento también depende de la madurez al momento de la cosecha (se han reportado menores pérdidas de firmeza en manzanas cosechadas tempranamente en comparación con aquellas de cosecha tardía) así como de la temperatura de almacenamiento (las bajas temperaturas son cruciales para la retención de firmeza) (DeElle et al., 2001).

1.4.1.3. Deterioro microbiológico

Los microorganismos son contaminantes naturales, tanto de los productos frescos como mínimamente procesados, y la contaminación puede provenir de diversas fuentes, incluyendo el manejo postcosecha y el procesamiento (Rico et al., 2007).

El crecimiento microbiano es afectado por factores intrínsecos, tales como actividad de agua, pH, presencia de antimicrobianos, disponibilidad de nutrientes, presencia de oxígeno, potencial redox y composición del alimento, pero también por factores extrínsecos como composición gaseosa de la atmósfera del envase, temperatura de almacenamiento o humedad relativa (Soliva-Fortuny et al., 2004).

Las principales características de frutas y hortalizas frescas cortadas que pueden aumentar las probabilidades de daño microbiológico y contaminación incluyen: (1) la presencia de superficies cortadas y aumento del contenido de humedad, (2) el mínimo procesamiento no asegura la esterilidad o estabilidad microbiana del producto, (3) el metabolismo activo del tejido vegetal y (4) el confinamiento del producto a un envase con atmósfera modificada (Rico et al., 2007).

El mínimo procesamiento puede incrementar el daño microbiológico en la fruta por transferencia de la microflora de la piel a la pulpa, donde los microorganismos pueden crecer rápidamente a expensas de los nutrientes allí presentes (Corbo et al., 2004).

Debido a sus bajos valores de pH, la microflora predominante en frutas frescas está compuesta principalmente por hongos. En manzanas, las poblaciones iniciales incluyen mohos tales como *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp. y *Trichoderma* spp., y/o levaduras como *Metschnikowia* spp., *Debaryomyces* spp. y *Candida* spp. Sin embargo, las operaciones

de procesamiento y condiciones de empaque transforman la ecología microbiana del producto (Soliva-Fortuny et al., 2004).

La proliferación de microorganismos en la superficie de frutas frescas cortadas actualmente es inhibida o retardada usando bajas temperaturas de almacenamiento, envases con atmósferas modificadas y sustancias antimicrobianas (Oms-Oliu et al., 2010).

En la actualidad se aplican distintos tipos de sustancias antimicrobianas entre las que se encuentran los ácidos orgánicos, que aumentan la concentración de protones y por lo tanto disminuyen el pH externo. El ácido cítrico es ampliamente utilizado y es un conservador efectivo (Oms-Oliu et al., 2010).

Sin embargo, en los últimos años ha habido una considerable presión de los consumidores por reducir o eliminar los aditivos sintetizados químicamente, de los alimentos. La utilización de agentes antimicrobianos de origen vegetal puede, por lo tanto, proveer una alternativa natural a los aditivos alimentarios. Estos productos naturales son usualmente compuestos GRAS (generally recognized as safe) y son capaces de inhibir el crecimiento microbiológico y de favorecer el flavor y la calidad, por la presencia de compuestos volátiles.

1.5. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS

Para seleccionar los métodos de conservación más adecuados para extender la vida útil de frutas frescas cortadas, se debe considerar que las células vegetales son unidades vivas que están constantemente tomando nutrientes y expulsando desechos. En este proceso, los nutrientes tienen que pasar a través de la pared y la membrana celular. En los procesos de conservación tradicionales aplicados a las frutas y hortalizas (esterilización, congelación, secado) se mata a las células vegetales. En el producto mínimamente procesado, estas células están aún vivas y deben permanecer así, o el tejido perderá su deseable calidad de fresco (King y Bolin, 1989). Por lo tanto, los tratamientos de conservación aplicados a estos productos deben tener en cuenta estas características.

Una metodología interesante para inhibir el crecimiento de microorganismos y mejorar la estabilidad de los alimentos, es el desarrollo del concepto de barreras u obstáculos, también conocida como tecnología de factores combinados. Esta metodología debe aplicarse cuidadosamente a las frutas y hortalizas frescas cortadas. Las barreras seleccionadas deben mantener la seguridad, la calidad sensorial y nutritiva, y extender la vida útil del producto. La

selección de dichas barreras en términos de número requerido, intensidad de cada una y secuencia de aplicación para alcanzar el objetivo propuesto, son de significativa importancia y marcarán el futuro desarrollo de frutas y hortalizas frescas cortadas (Allende et al., 2006). Los métodos de conservación o barreras que pueden incluirse son: tratamientos químicos (comprendiendo acidulantes, antioxidantes, antimicrobianos, etc.), tratamientos térmicos suaves, envasado en atmósfera modificada y conservación refrigerada, entre otros.

Se debe tener en cuenta que la diferencia entre las distintas frutas así como la variabilidad intrínseca de cada una (determinada por factores de precosecha y postcosecha) hace que no siempre las tecnologías adoptadas para una fruta puedan ser aplicadas a otras. Por esta razón, el estudio de los efectos de los distintos tratamientos sobre la calidad sensorial y nutricional no puede aislarse de la fruta de origen.

1.5.1. Aplicación de tratamientos térmicos suaves

Se ha encontrado que los tratamientos por inmersión en agua a distintas temperaturas han ayudado a mantener la calidad en varias frutas y hortalizas. Se ha demostrado que un tratamiento de 90 segundos a 45°C reduce el pardeamiento en lechuga fresca cortada (Allende et al., 2006). La aplicación de shock térmico a lechuga fresca cortada reduce la actividad de las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y peroxidada (POD), con el consecuente descenso en el desarrollo de pardeamiento (Allende et al., 2006; Martín-Diana et al., 2005).

Kim et al. (1993) estudiaron el efecto de diferentes tratamientos térmicos suaves y el mínimo procesamiento sobre 11 variedades de manzanas. Evaluaron la susceptibilidad al pardeamiento durante y después de realizados los tratamientos. También determinaron los cambios en firmeza, velocidad de respiración, sólidos solubles y acidez de las manzanas frescas cortadas tratadas térmicamente. Encontraron que el desarrollo de pardeamiento dependía de la variedad y la temperatura del tratamiento, y que las manzanas tratadas a 45°C generaban trozos con menos pardeamiento y textura más firme, en comparación con las manzanas no tratadas.

Abreu et al. (2003) estudiaron el efecto de los tratamientos térmicos suaves realizados en distintas combinaciones de tiempo/temperatura, sobre la calidad de pera fresca cortada. Evaluaron y modelaron los cambios en color, firmeza, contenido de sólidos solubles y pH. Determinaron que los tratamientos térmicos suaves fueron exitosos en reducir o mantener el pardeamiento de cuartos de peras 'Rocha', siendo los tratamientos a 35-45°C por 40-150 minutos los más apropiados. Observaron un incremento en la firmeza para las peras tratadas a temperaturas mayores a 45°C, independientemente del tiempo del tratamiento. A su vez, luego

de 7 días de almacenamiento a 2°C, las peras frescas cortadas no desarrollaron pardeamiento aunque sufrieron una reducción de la firmeza.

Koukounaras et al. (2008) encontraron que el tratamiento de duraznos a 50°C por 10 minutos realizado 4 horas antes del corte, controló efectivamente el pardeamiento y retuvo la firmeza de la fruta fresca cortada durante el almacenamiento refrigerado. Los autores reportaron una actividad significativamente mayor de la enzima pectinmetilesterasa (PME) durante los primeros dos días de almacenamiento, en los duraznos tratados térmicamente, mientras que no detectaron diferencias significativas en la actividad de las enzimas polifenol oxidasas (PPO) presentes en los duraznos tratados térmicamente y sin tratar.

El shock térmico, junto con el corte y la exposición a niveles alterados de oxígeno y dióxido de carbono, entre otros, es uno de los estreses abióticos utilizados durante la postcosecha como herramienta tradicional para extender la vida útil de frutas y hortalizas, considerando principalmente los cambios en color, textura y flavor. Además, estos estreses afectan la acumulación o pérdida de fitoquímicos induciendo un aumento o reducción en la actividad de las enzimas claves de los caminos metabólicos secundarios.

La exposición de frutas y hortalizas a diferentes estreses abióticos controlados tiene un impacto significativo sobre la calidad y potencial saludable de frutas y hortalizas cortadas. Éstos afectan la biosíntesis de los tres principales grupos de metabolitos secundarios: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Cisneros-Zevallos, 2003).

1.5.2. Aplicación de tratamientos químicos

Los tratamientos con soluciones antioxidantes, son una de las barreras utilizadas para preservar el color inicial en frutas frescas cortadas.

Uno de los compuestos más usados es el ácido ascórbico (ÁA) porque reduce efectivamente el pardeamiento, es GRAS (generally recognized as safe), conveniente desde el punto de vista económico y atractivo para los consumidores. El ÁA es capaz de prevenir el pardeamiento enzimático reduciendo las quinonas nuevamente a compuestos fenólicos antes de que formen los pigmentos amarrados (Figura 1.6). Sin embargo, el ácido ascórbico se oxida a ácido dehidroascórbico (ÁDHA), luego de un cierto tiempo, permitiendo la acumulación de la o-quinonas (Rojas-Graü et al., 2009). Por lo tanto, provee una protección temporal a menos que se utilice en muy altas concentraciones (Gil et al., 1998) y puede ser insuficiente para evitar el pardeamiento enzimático y mantener el valor comercial de los productos frescos cortados (Jang y Moon, 2011). Este agente reductor indirectamente también puede inactivar la PPO por

degradación del radical libre de la molécula de histidina en el sitio activo y por reducción del cofactor Cu^{2+} a Cu^+ , lo que facilita la disociación del ion cuproso de la enzima.

El ácido ascórbico y sus derivados (solo o en combinación con ácido cítrico) se han usado en numerosos estudios en frutas y hortalizas en concentraciones que varían entre 0,5 y 4,0%, y su efecto para prevenir el amarronamiento ha sido demostrado (Piagentini y Güemes, 2002; Toivonen y Brummell, 2008; Piagentini et al., 2012; Rodríguez Arzuaga et al., 2013). Se ha reportado una inhibición del 90 al 100% de la actividad de la enzima PPO en cubos de manzanas usando una solución de 1% de ácido ascórbico y 0,2% de ácido cítrico. Además, el ácido ascórbico, en su acción como agente reductor, previene la disminución del contenido fenólico (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

Giacalone y Chiabrandó (2013) compararon el efecto de un compuesto comercial que contiene ascorbato de calcio (Natureseal), con dos sales de calcio asociadas con ácido cítrico, sobre la calidad de manzanas 'Golden Delicious' cortada en cubos y almacenada a 1°C por 5 días. Se encontró que el producto comercial fue el más efectivo en mantener la calidad de las manzanas frescas cortadas, pero que la combinación de cloruro de calcio con ácido cítrico también podría ser un buen tratamiento para preservar la calidad de este producto por cinco días, aunque en algunas muestras se detectaron sabores extraños. En cuanto al tratamiento realizado con propionato de calcio y ácido cítrico, permitió gran desarrollo de pardeamiento, y se lo asoció en algunas muestras a sabores extraños, a pesar de ser efectivo en mantener la firmeza, la acidez total y los sólidos solubles del producto. Los autores indican que la aplicación del tratamiento con cloruro de calcio y ácido cítrico podría utilizarse en pequeñas industrias de frescos cortados como una alternativa más económica (aproximadamente 30% más barato) a los productos comerciales.

El pardeamiento también puede ser evitado mediante la eliminación de uno de los componentes necesarios para su actividad: oxígeno, enzima, cobre (cofactor de las enzimas) y sustrato. Una de las formas habituales de resolver este problema es la reducción de las quinonas formadas por la PPO o la inhibición o inactivación de la PPO. Sustancias acidulantes como ácidos cítrico, málico o fosfórico pueden inhibir a la PPO reduciendo el pH (la actividad de la PPO es óptima a pH 6,0-6,5, mientras que a pH inferiores a 4,5 la actividad es muy baja) y/o quelando el cobre presente en las frutas (Jiang et al., 2004). Agentes reductores como el ácido ascórbico, la cisteína o los sulfitos ayudan también a reducir el pardeamiento enzimático disminuyendo la concentración del oxígeno presente. Sin embargo, los sulfitos se encuentran

cuestionados debido a sus efectos adversos para la salud. Es por ello, que en años recientes, se ha incrementado la necesidad de la sustitución de estos compuestos sintéticos por sustancias naturales.

1.5.2.1. Aplicación de antioxidantes de origen natural

Se ha evaluado el efecto inhibitorio de miel, extracto de cebolla y té verde sobre la PPO, pero se encontró poca información acerca de la utilización de infusiones de yerba mate y otras hierbas con ese fin (Jeon y Zhao, 2005; Kim et al., 2005; Lee et al., 2007; Soysal, 2009; Martín et al., 2010).

La actividad inhibitoria de estos compuestos naturales sobre la PPO se debe a que son ricos en compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos constituyen los sustratos que al oxidarse enzimáticamente contribuyen al pardeamiento de las superficies cortadas en los vegetales frescos cortados. Pero por otra parte, estos compuestos son importantes metabolitos secundarios que pueden actuar como neutralizantes de los radicales libres y ser una importante fuente de antioxidantes naturales (Martínez-Valverde et al., 2000). Los antioxidantes fenólicos interrumpen la propagación de la cadena de autooxidación del radical libre, entregando un átomo de hidrógeno del grupo fenilhidroxilo, lo que genera la formación de un radical libre relativamente estable que no inicia ni propaga procesos de oxidación posteriores (Martín-Diana et al., 2008).

El mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill., Aquifoliaceae) es un árbol ampliamente distribuido en el sur de Brasil, nordeste de Argentina, Paraguay y Uruguay. En dicha región, las hojas desecadas y molidas (“yerba mate” o “yerba”) se utilizan en la preparación de una bebida tradicional (“mate”). El hábito de beber mate se encuentra firmemente arraigado en Argentina, sur de Brasil, Paraguay y Uruguay (Dellacassa y Bandoni, 2001).

El alto contenido de compuestos polifenólicos en el mate es responsable de sus notables propiedades antioxidantes (Bravo et al., 2007). Aunque la concentración de polifenoles en una infusión de mate depende del tipo de yerba mate, su grado de molienda y la mezcla con otros té, en promedio la cantidad de polifenoles extraída del mate es 92 mg equivalentes de ácido clorogénico por gramo de hojas secas. A su vez, la concentración de polifenoles en el mate ha demostrado tener una alta correlación con su actividad antioxidante total (Heck y Mejía, 2007).

Los compuestos polifenólicos del mate difieren significativamente de los de otros tipos de té, como el té verde, porque el mate presenta alto contenido de ácido clorogénico y no presenta catequinas. Los derivados del cafeoil encontrados en el mate incluyen los ácidos

cafeico, clorogénico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico y 4,5-dicafeoilquínico. Los derivados del cafeoil son los principales responsables de la capacidad antioxidante del mate (Heck y Mejía, 2007; Filip et al., 2000).

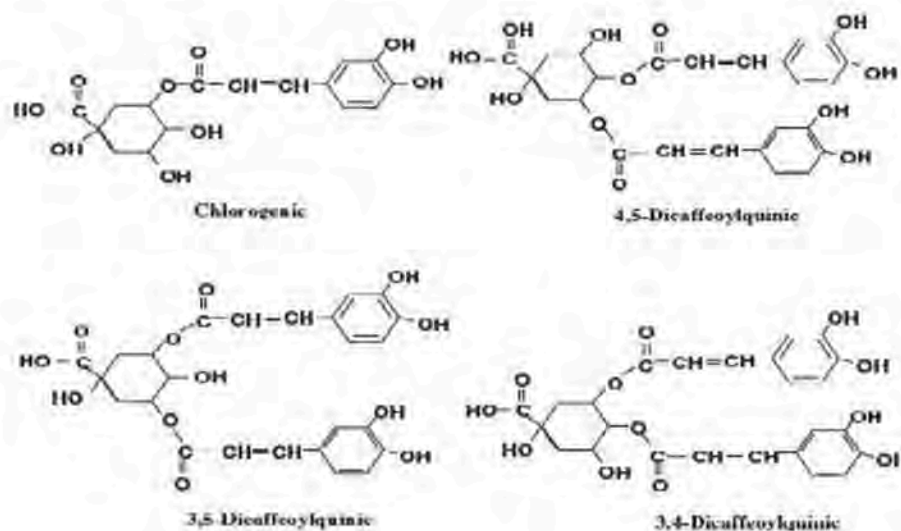


Figura 1.7. Compuestos polifenólicos derivados del cafeoil encontrados en el mate: ácido clorogénico, ácido 4,5-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico y ácido 3,4-dicafeoilquínico (Heck y Mejía, 2007).

La habilidad del mate para atrapar especies reactivas de oxígeno ha sido correlacionada con la actividad peroxidasa. Esta actividad está fuertemente relacionada con la concentración de polifenoles en el mate: a mayor concentración de polifenoles mayor actividad peroxidasa (Heck y Mejía, 2007).

Martín et al. (2010) aplicaron infusiones de yerba mate al 1 y 2% (m/v) a extractos de la enzima PPO de manzanas variedad ‘Princesa’ y concluyeron que los extractos de yerba mate ejercen un efecto inhibitorio importante sobre la actividad de dicha enzima.

Rodríguez Vaquero et al. (2010) estudiaron el contenido de compuestos fenólicos y las actividades antioxidantes y antibacterianas de la infusión acuosa de 13 hierbas argentinas. Encontraron que *Ilex paraguaiensis* (yerba mate) presentó la mayor cantidad de compuestos fenólicos totales y flavonoides. La alta correlación entre actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales indicó que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes a esta capacidad. Además, la infusión de *Ilex paraguaiensis* fue la más efectiva en reducir la viabilidad de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves y antioxidantes de origen natural ricos en polifenoles, sobre la calidad y potencial saludable de manzanas frescas cortadas.

1.6.2. Objetivos específicos

1.6.2.1. Respetto de las variedades de manzana

- Determinar las características fisicoquímicas, contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de cinco variedades de manzanas: dos de gran importancia comercial y alto requerimiento de horas de frío ('Granny Smith' y 'Red Delicious') y tres variedades de producción regional y de bajo requerimiento de horas de frío ('Caricia', 'Eva' y 'Princesa').

1.6.2.2. Respetto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves

- Determinar las curvas de calentamiento-enfriamiento y los tiempos de semienfriamiento de las cinco variedades de manzana.
- Evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves (cuya aplicación no ha sido estudiada para las variedades regionales) sobre las características fisicoquímicas y el contenido de polifenoles totales de las cinco variedades de manzana.
- Modelar el efecto inicial y luego de 7 días de almacenamiento refrigerado, del tiempo y la temperatura del tratamiento térmico sobre las características fisicoquímicas y contenido de polifenoles totales de manzanas frescas cortadas.

1.6.2.3. Respetto de la aplicación de tratamientos químicos

- Evaluar las propiedades de diferentes infusiones de yerba mate.
- Realizar una evaluación preliminar de la aplicación de tratamientos con infusiones de yerba mate, sola o en combinación con ácido cítrico y ácido ascórbico, como inhibidor del pardeamiento enzimático en manzanas frescas cortadas.
- Modelar el efecto de las diferentes concentraciones de los componentes de la solución antioxidante sobre el pH, diferencias de color, actividad antioxidante y calidad sensorial de manzanas frescas cortadas
- Determinar las concentraciones óptimas de una solución acuosa de infusión de yerba mate, ácido ascórbico y ácido cítrico, para reducir el pardeamiento enzimático e incrementar el potencial saludable sin alterar la calidad sensorial de manzanas frescas cortadas.

- Evaluar el efecto del mínimo procesamiento y del tratamiento químico con una solución antioxidante en las concentraciones óptimas determinadas, sobre las características fisicoquímicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de manzanas ‘Granny Smith’.
- Evaluar el efecto del tratamiento químico aplicado en las concentraciones óptimas sobre las características fisicoquímicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.
- Evaluar la aceptabilidad sensorial de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante en las concentraciones óptimas determinadas.

2. Materiales y Métodos

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIA PRIMA

Se utilizaron manzanas de cinco variedades diferentes, dos de gran importancia comercial y alto requerimiento de horas de frío: ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’, y tres variedades adaptadas al cultivo en la zona centro-Este de la Provincia de Santa Fe, con bajo requerimiento de horas de frío: ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’ (Figura 2.1). Las manzanas ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ se adquirieron en un local comercial de la ciudad de Santa Fe y se mantuvieron en cámara de frío a 1,5°C hasta el momento de su utilización. Las manzanas ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’ se obtuvieron del Campo Experimental de Cultivos Intensivos y Forestales (CECIF) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral en la localidad de Esperanza, provincia de Santa Fe.

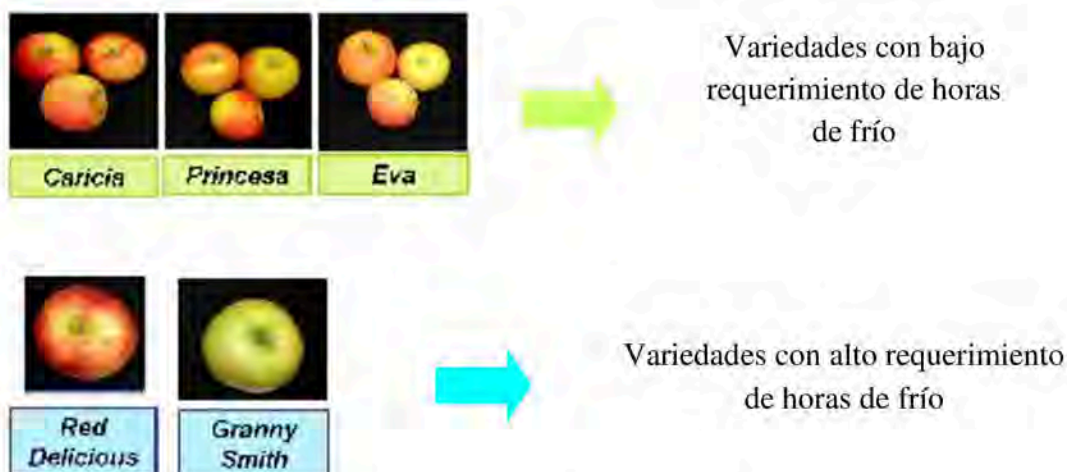


Figura 2.1. Variedades de manzanas.

2.1.1. Caracterización de la materia prima.

Para evaluar las características fisicoquímicas de las variedades de manzanas ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’ utilizadas, se determinaron:

- Peso y diámetro
- pH
- Contenido de sólidos solubles
- Firmeza
- Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

Las determinaciones se realizaron sobre 20 frutas de cada variedad en dos períodos de cosecha: años 2010-2011 y 2011-2012.

2.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS SUAVES A MANZANAS ENTERAS

2.2.1. Determinación de las curvas de calentamiento-enfriamiento y tiempo de semienfriamiento.

Se obtuvieron los perfiles de temperatura de calentamiento - enfriamiento de cada una de las 5 variedades de manzanas ensayadas ('Caricia', 'Eva', 'Granny Smith', 'Princesa' y 'Red Delicious'). Los perfiles se determinaron durante una primera etapa de calentamiento, realizada similarmente a como se describe en el punto 2.2.2, a 3 temperaturas del baño térmico (40, 45 y 50°C), y posterior enfriamiento hasta la temperatura de almacenamiento en cámara refrigerada (1,5°C) mediante el registro de la temperatura en el centro de cada fruta utilizando termocupla y data-logger.

A modo de ejemplo, en la Figura 2.2 se presenta un perfil de temperatura en el que se grafica la temperatura del producto (T) en función del tiempo (t). Como se puede observar, a $t=0$, T es igual a la temperatura inicial (T_0), mientras que a $t=\infty$, T sería igual a la temperatura del aire de la cámara de frío (T_a).

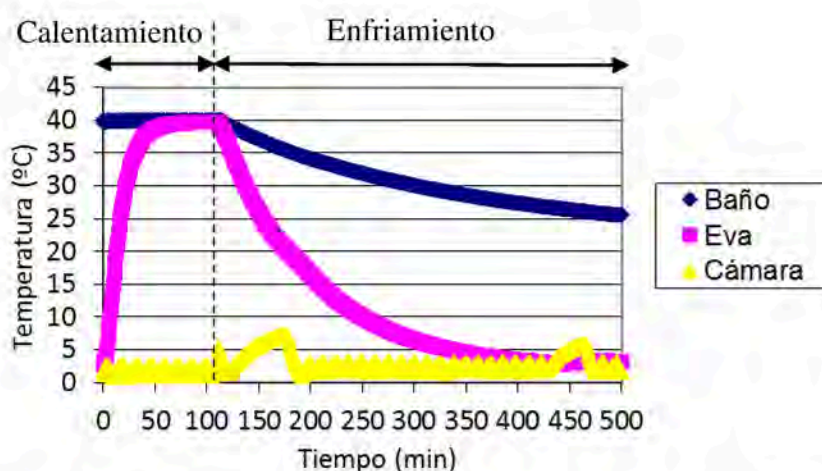


Figura 2.2. Perfil de temperatura de manzana variedad 'Eva' durante las etapas de calentamiento en baño de agua y enfriamiento en cámara.

Temperatura inicial manzana (T_0) = 2,7°C; Temperatura del baño de agua ($T_{baño}$) = 40°C; Temperatura del aire de la cámara (T_a) = 1,5°C.

Los datos de temperatura de las manzanas en función de tiempo de la etapa de enfriamiento en aire en la cámara refrigerada (volumen de cámara $3 \times 3 \times 2 \text{ m}^3$, vel. aire: 0,5 m/s) posterior al calentamiento, se utilizaron para la determinación del tiempo de semienfriamiento.

El tiempo de semienfriamiento, o $t_{1/2}$, se define para enfriamiento con aire o agua como el tiempo necesario para reducir a la mitad la diferencia de temperatura entre el producto y el

medio de enfriamiento. $t_{1/2}$ depende del método de enfriamiento (medio y movimiento del medio de enfriamiento), del tipo de embalaje, estiba, geometría, dimensiones, propiedades térmicas; y es independiente de la temperatura inicial del producto y de la temperatura del medio de enfriamiento (Calvelo, 1987). Puede considerarse constante durante el enfriamiento y se utiliza generalmente para comparar la velocidad de enfriamiento entre diferentes métodos.

Es decir:

$$\text{Si, } \frac{T - T_a}{T_0 - T_a} = 0,5 \Rightarrow (t_f - t_i) = t_{1/2} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

donde: T es la temperatura del producto

T_a es la temperatura del aire

T_0 es la temperatura inicial del producto

De acuerdo a las ecuaciones de transferencia de calor en estado no estacionario sin cambio de fase (Toledo, 1999; Calvelo, 1987) el cambio de temperatura del producto (T) en función del tiempo (t) se puede expresar como:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \left[\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right] \quad \text{Ecuación 2.2}$$

$$\text{donde: } \alpha = \frac{k}{\rho \cdot c_p} = \text{difusividad térmica, [m}^2/\text{s]} \quad \text{Ecuación 2.3}$$

k; conductividad térmica, [J/s.m.°C]

ρ ; densidad, [kg/m³]

c_p ; calor específico, [J/g °C]

Las soluciones exactas para formas regulares tienen la siguiente forma:

$$T^* = \sum_{n=1}^{\infty} C_{n(x)} \cdot e^{-\mu_n^2 F_0} \quad \text{Ecuación 2.4}$$

$$\text{donde: } T^* \text{ (temperatura adimensional)} = \frac{T - T_a}{T_0 - T_a} \quad \text{Ecuación 2.5}$$

$C_n = f(\text{Bi, geometría, posición})$

$\mu_n = f(\text{Bi, geometría})$

$$\text{N}^\circ \text{ de Biot} = \text{Bi} = \frac{h}{k/D}, \quad \text{Ecuación 2.6}$$

siendo: h el coeficiente de transferencia de calor [J/s.m^2] y D [m] la dimensión característica que para esferas (geometría a la que se asemeja una manzana) es el radio

$$\text{Fourier} = F_0 = \frac{\alpha \cdot t}{D^2} \quad \text{Ecuación 2.7}$$

Estas series convergen rápidamente (para $F_0 \gg 0,2$) y es posible utilizar sólo el primer término sin grandes errores. Es decir:

$$T^* = C_1 \cdot e^{-\mu_1^2 \cdot F_0} \quad \text{Ecuación 2.8}$$

linealizando:

$$\ln T_1^* = \ln A_1 - \mu_1^2 \cdot F_0 \quad \text{Ecuación 2.9}$$

a partir de esta ecuación se puede obtener: $t_{1/2} = \frac{\ln 2 \cdot D^2}{\mu_1^2 \cdot \alpha}$ Ecuación 2.10

Construyendo el perfil de temperatura como T^* en función de t , el tiempo de semienfriamiento puede obtenerse gráficamente. En la Figura 2.3 se presenta el perfil de temperatura obtenido para la etapa de enfriamiento para la variedad 'Granny Smith'.

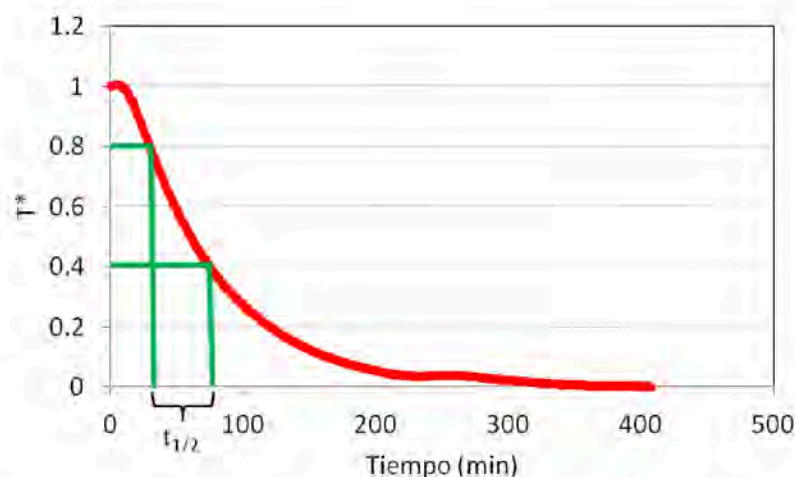


Figura 2.3. Determinación gráfica del tiempo de semienfriamiento de manzanas variedad 'Granny Smith'.

Temperatura del aire (T_a)= 1,5°C; Temperatura inicial (T_0)= 45°C.

Utilizando una escala logarítmica se linealizaron los perfiles de temperatura y se obtuvo la ecuación de la recta. Este procedimiento se repitió para las 5 variedades y se partió de tres temperaturas iniciales distintas (40, 45 y 50°C) para cada una de ellas. En la Figura 2.4 se presenta como ejemplo, el perfil de temperatura de ‘Granny Smith’ luego de la linealización.

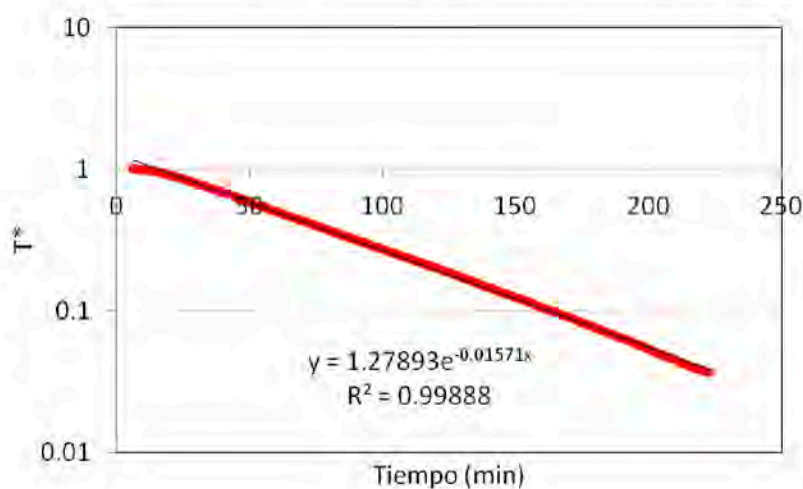


Figura 2.4. Linealización de la Ecuación 2.8 ($\ln T^*$ en función del tiempo de enfriamiento) de manzanas variedad ‘Granny Smith’.

Temperatura del aire (T_a)= 1,5°C; Temperatura inicial (T_0)= 45°C.

De acuerdo a la Ecuación 2.9, que es la linealización de la Ecuación 2.8 (que corresponde al primer término de la ecuación de Fourier y es válida si $F_0 \gg 0,2$), y considerando la Ecuación 2.7, la pendiente de la recta obtenida del perfil de temperatura linealizado corresponde a $-\mu_1^2 \cdot \alpha \cdot t / D^2$. De esta forma, se obtuvieron los valores correspondientes a $-\mu_1^2 \cdot \alpha / D^2$, para cada una de las cinco variedades estudiadas, y con esta información se obtuvieron los tiempos de semienfriamiento a partir de la Ecuación 2.10.

2.2.2. Evaluación preliminar. Selección de variedades para la aplicación de tratamientos térmicos

Se realizaron ensayos preliminares con el objetivo de evaluar la respuesta de las cinco variedades de manzanas con distintos requerimientos de horas de frío a los tratamientos térmicos suaves, principalmente a través del desarrollo de pardeamiento y cambios en la firmeza, de manera de preseleccionar la o las variedades de manzanas más apropiadas.

Para ello, para cada ensayo se seleccionaron 6 manzanas de similar diámetro, de cada variedad, almacenadas en cámara refrigerada a 1,5°C. Inmediatamente fueron colocadas en canastillas de acero inoxidable y ubicadas en un baño de agua (volumen de agua: 18-19 litros) con agitación y calentamiento mediante resistencia eléctrica, provisto de termostato (Figura

2.5). El tratamiento térmico suave se realizó a 45°C y durante 55 minutos. Luego, las manzanas se colocaron en cámara de frío a 1,5°C. Al día siguiente de la realización de las experiencias, se evaluó el color de la pulpa, firmeza y contenido de polifenoles, tanto de las manzanas tratadas térmicamente como de aquellas sin tratar (control). Para los ensayos posteriores, se seleccionaron las variedades de manzanas que no desarrollaron pardeamiento ni tuvieron una severa pérdida de firmeza o compuestos polifenólicos.



Figura 2.5. Baño de agua termostatizado y con agitación.

2.2.3. Diseño experimental.

Utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM), siguiendo un diseño experimental $3^2 + 2$ repeticiones en el punto central (variables: tiempo y temperatura en 3 niveles), se estudiará el efecto del tratamiento térmico en las variedades de manzanas seleccionadas en el inciso 2.2.2.

2.2.3.1. Límites del dominio experimental

Teniendo en cuenta los datos publicados en bibliografía sobre la aplicación de tratamientos térmicos suaves a frutas se decidió aplicar temperaturas en el rango de 40 y 50°C durante 20 a 90 minutos (Koukokaras et al., 2008; Lamikanra et al., 2005; Vicente et al., 2005; Abreu et al., 2003).

2.2.3.2. Variables y respuestas estudiadas.

Para estudiar el efecto del tratamiento térmico se utilizará la metodología de superficie de respuesta, través de un diseño factorial completo de 2 variables (tiempo y temperatura) en 3 niveles cada una, con dos repeticiones en el punto central ($3^2 + 2$).

Se supuso que existía una función matemática para la respuesta en función de las dos variables independientes de proceso (Montgomery, 1991).

$$Y_k = f_k(T, t) \quad \text{Ecuación 2.11}$$

Donde: Y_k = Respuesta

T = temperatura del agua ($^{\circ}\text{C}$)

t = tiempo de calentamiento (min)

Para aproximar las funciones se usaron ecuaciones polinomiales de 2do orden:

$$Y_k = B_0 + \sum B_{ki} \cdot X_i + \sum B_{kii} \cdot X_i^2 + \sum B_{kij} \cdot X_i \cdot X_j \quad \text{Ecuación 2.12}$$

Donde: B_0 , B_{ki} , B_{kii} y B_{kij} : son los coeficientes.

X_i : son las variables independientes.

Las variables independientes y sus niveles se presentan en la Tabla 2.1. Las respuestas estudiadas (Y_k) fueron:

- Porcentaje de retención de pH.
- Porcentaje de retención de acidez.
- Porcentaje de retención de sólidos solubles.
- Porcentaje de retención de firmeza.
- Porcentaje de retención de polifenoles totales.
- Cambio porcentual de los parámetros instrumentales de color: δL^* , δa^* , δb^* , δC_{ab}^* y δh_{ab} .

Entendiendo como porcentaje de retención al cociente entre el valor del parámetro de la muestra tratada térmicamente (TT) y sin tratar (control) multiplicado por 100, por ejemplo % retención pH= $(\text{pH}_{\text{TT}}/\text{pH}_{\text{C}}) \cdot 100$. A su vez, los cambios porcentuales de color se refieren a la diferencia del valor del parámetro de la muestra TT y la muestra control dividida entre el valor del parámetro de la muestra control y multiplicado por 100, por ejemplo: $\delta L^* = [(L^*_{\text{TT}} - L^*_{\text{C}})/L^*_{\text{C}}] \cdot 100$.

Tabla 2.1. Variables independientes y niveles usados.

Variables independientes	Símbolo	Niveles
Temperatura del agua (°C)	T	40
		45
		50
Tiempo de calentamiento (min)	T	20
		55
		90

2.2.3.3. Elaboración de las muestras

Las manzanas enteras se colocaron en baño de agua a la temperatura y durante el tiempo definidos por el diseño experimental (2.2.3.2). Una vez cumplido el tiempo de calentamiento, las manzanas se retiraron del baño y se llevaron a cámara a 1,5°C. Luego de permanecer 24 horas en cámara de enfriamiento, las manzanas tratadas térmicamente (TT) se procesaron aplicando un procedimiento general de elaboración (pelado, descorazonado, cortado en octavos, envasado). Se procedió de igual forma con manzanas sin tratar térmicamente o control (C). La mitad de las muestras procesadas (tanto tratadas como control) se envasaron en potes de PET (4 octavos por pote) y se almacenaron en cámara a 1,5°C para analizarse después de 7 días, y la otra mitad se analizó inmediatamente.

2.2.3.4. Análisis estadístico

El programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE. UU.) se utilizó para el análisis de los datos a través del análisis de varianza (ANOVA) y para comprobar la idoneidad de los modelos propuestos. Asimismo, permitió ajustar las ecuaciones polinomiales de 2° orden a los datos experimentales tanto en variables codificadas como sin codificar, graficar las superficies predichas a partir de los modelos.

2.3. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS QUÍMICOS A MANZANAS FRESCAS CORTADAS

Se realizaron ensayos de inhibición del desarrollo de pardeamiento enzimático de manzanas aplicando antioxidantes naturales ricos en polifenoles (infusión de yerba mate) y sintéticos (ácido ascórbico y ácido cítrico), en forma individual o combinada.

2.3.1. Evaluación de las propiedades de la infusión de yerba mate (YM)

La actividad antioxidante de las infusiones de YM depende de su concentración. Además, estas infusiones presentan un color amarillo verdoso que podría trasladarse a la fruta, por lo que se propone una decoloración de las infusiones con carbón activado, evaluando además el efecto de esta operación sobre la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de la infusión.

2.3.1.1. Preparación de las infusiones de YM.

Para la preparación de las infusiones de YM se utilizó yerba mate comercial de origen argentino, del mismo año de producción y lote, adquirida en un comercio de la zona.

Las infusiones de YM se prepararon calentando 500 mL de agua hasta alcanzar los 90°C. Una vez alcanzada la temperatura se detuvo el calentamiento y se agregó la cantidad de YM correspondiente, según la concentración (% m/v) que se deseara obtener en la infusión. Se agitó, se tapó y se dejó en reposo durante 5 minutos. Al cabo de este tiempo se realizó una filtración con algodón, y se dejó alcanzar la temperatura ambiente. Se agregó agua hasta alcanzar el volumen total inicial de 500 mL y la infusión se filtró nuevamente, esta vez utilizando papel de filtro.

2.3.1.2. Decoloración de las infusiones de YM.

Se tomó una alícuota de 50 mL de cada infusión de YM y se le agregaron 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30; 0,40 y 0,50 gramos de CA (según se quisiera decolorar la infusión con 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 o 1,0 % (m/v)). Se agitó durante 1 minuto y se filtró con papel de filtro Whatman 42. Las muestras se prepararon por duplicado.

2.3.1.3. Efecto de la concentración de YM y carbón activado sobre las propiedades de las infusiones de YM.

Se estudió la variación del contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante y color de cada infusión de YM en función de la concentración de decolorante para definir una combinación de concentración de YM y decolorante, que no interfiriera con el color natural del alimento y tuviera máxima capacidad antioxidante y aporte de polifenoles.

Se estudiaron las propiedades de infusiones de 1,0; 2,0; 3,0 y 4,0% YM sin decolorar, así como de infusiones con 2,0; 3,0 y 4,0% de YM decoloradas con 8 niveles de carbón activado: 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0%, cada una.

Para todas las infusiones de YM (sin decolorar y decoloradas) se determinaron:

- Parámetros instrumentales de color: L^* , a^* , b^* , C_{ab}^* y h_{ab} .
- Polifenoles totales.
- Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP.

La variación de cada una de estas características de las infusiones de YM aquí estudiadas en función de la concentración de CA, se puede describir con la siguiente ecuación general:

$$\pm dP/dC_{CA} = k_P \cdot [P]^n \quad \text{Ecuación 2.13}$$

Donde: P = característica evaluada

C_{CA} = concentración de carbón activado

n = orden de reacción

k_P = constante de variación de cada característica

El signo “+” aplica a características crecientes con la concentración de CA y el signo “-” a aquellos decrecientes.

En este trabajo se encontró que el modelo de primer orden ($n = 1$) era el más adecuado para describir los cambios en los parámetros medidos. Integrando y linealizando la Ecuación 2.13 resulta:

$$\ln P = \ln P_0 \pm k_P \cdot C_{CA} \quad \text{Ecuación 2.14}$$

La constante de variación de cada característica evaluada, k_P , (pendiente de la recta) y el $\ln P_0$ (ordenada en el origen) se estiman por análisis de regresión lineal.

2.3.1.4. Análisis estadístico. Coeficiente de correlación de Pearson

El programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.) se utilizó para determinar el efecto de la concentración de YM y decolorante (carbón activado) sobre los parámetros instrumentales de color, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate a través del análisis de varianza (ANOVA). También se aplicó el Test de rangos múltiples de Tukey, con un nivel de confianza del 95% para detectar diferencias significativas entre muestras.

Por otra parte, para comprender las relaciones entre las distintas respuestas estudiadas, se realizó un análisis de correlación de Pearson. El coeficiente de correlación de Pearson es un índice que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente. Los coeficientes de correlación miden la fuerza de la relación lineal entre dos variables en una escala de -1 a $+1$. Entre mayor sea el valor absoluto de la correlación, más fuerte es la relación lineal entre las dos variables, el signo refleja sólo el sentido, es decir si la correlación es positiva o negativa (Statgraphics, 2006).

Coeficiente de correlación Producto-Momento de Pearson:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Ecuación 2.15}$$

Para cada par de variables, se determinó. r_{ij} , el coeficiente de correlación de Pearson estimado entre la variable fila i y la variable columna j ; y el P_{ij} , un P-valor que puede ser usado para probar la hipótesis nula de que la correlación entre dos variables es igual a 0. P-Valores pequeños (menores que 0,05 si se opera a un nivel de significancia del 5%) corresponden a correlaciones estadísticamente significativas (Nieves Hurtado y Domínguez Sánchez, 2010).

Partiendo de dos hipótesis:

$H_0: r_{ij}=0$ (El coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es 0).

$H_1: r_{ij} \neq 0$ (El coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es distinta de 0).

Dado un cierto coeficiente de correlación r_{ij} obtenido de una determinada muestra se intenta comprobar si se encuentra dentro de la distribución muestral especificada por la hipótesis nula, para lo que se calcula el estadístico t (Ecuación 2.16) y se compara con una t distribución con $n-2$ grados de libertad, para determinar la significación del coeficiente de correlación determinado.

$$t = \frac{(n-2)^{1/2} r}{1-r^2} \quad \text{Ecuación 2.16}$$

2.3.2. Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos preliminares de aplicación de infusiones de YM sola o combinada con ácido cítrico y ácido ascórbico para evaluar el efecto sobre la calidad de manzanas frescas cortadas

2.3.2.1. Etapas de procesamiento para la obtención de manzanas frescas cortadas

Se trabajó con manzanas variedad 'Granny Smith', adquiridas en un comercio local de la ciudad de Santa Fe, Argentina. El mínimo procesamiento aplicado a las manzanas 'Granny Smith' se muestra en la Figura 2.6 y comprendió las siguientes etapas:

- 1) Lavado y desinfección: las manzanas enteras se sumergieron en una solución de 100 ppm de Cl_2 ($\text{pH}= 7,0$ y $T= 20^\circ\text{C}$), en una relación de 1 kg de manzanas/3 L de solución, durante 2 minutos. Transcurrido este tiempo, las manzanas se retiraron de la solución y se escurrieron por gravedad, durante 2 minutos.
- 2) Pelado: las manzanas se pelaron manualmente utilizando un cuchillo afilado de hoja lisa, para minimizar el daño en el tejido.
- 3) Descorazonado y cortado en octavos: esta etapa se llevó a cabo con un utensilio diseñado para este fin, con cuchillas afiladas y de hoja lisa.
- 4) Desinfección: los octavos se sumergieron en una solución de 30 ppm de Cl_2 ($\text{pH}= 7,0$ y $T= 20^\circ\text{C}$), en una relación de 1 kg de octavos de manzana/3 L de solución, durante 2 minutos. Transcurrido este tiempo, los octavos se retiraron de la solución y se escurrieron durante 2 minutos por gravedad y posteriormente se colocaron durante otros 2 minutos en papel absorbente (1 minuto de cada lado del octavo).
- 5) Tratamiento químico: los octavos desinfectados se sumergieron en la solución antioxidante correspondiente dependiendo del tratamiento que se deseara aplicar, en una relación de 1 kg de octavos/3 L de solución, durante 3 minutos. Una vez finalizado este tiempo se repitió el proceso de escurrido por gravedad y en papel absorbente descrito en el punto anterior.
- 6) Envasado: los octavos se envasaron en bandejas de tereftalato de polietileno (PET) con tapa, previamente desinfectadas con alcohol, a razón de 4 octavos por bandeja (80-100g). Características del envase: PET de 0,42 mm de espesor, 270 cm^3 de capacidad, con un área superficial de 0,036 m^2 y velocidades de transmisión: 29-59 [$\text{cm}^3/\text{m}^2.\text{día}.\text{atm}$] para O_2 (a 23°C y 0% RH) y 12-18 [$\text{g}/\text{m}^2.\text{día}$] para vapor de agua (a

38°C y 90% RH). Finalizada esta etapa las muestras fueron analizadas inmediatamente o almacenadas como se describe a continuación, según correspondiera.

- 7) Almacenamiento: las bandejas conteniendo los octavos se almacenaron a 2°C o 10°C, según el ensayo que se estuviera llevando a cabo.

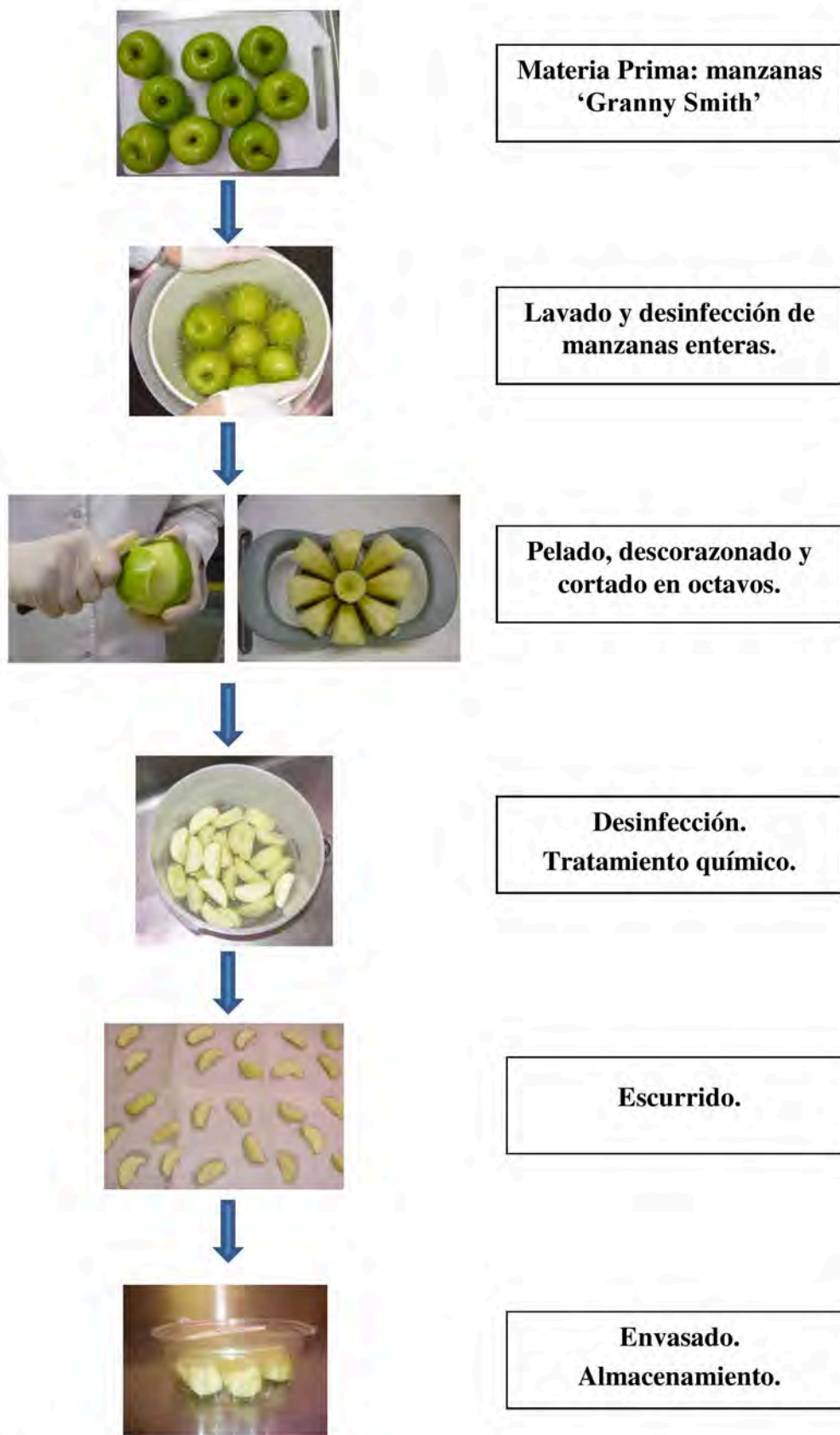


Figura 2.6. Diagrama del mínimo procesamiento aplicado a manzanas 'Granny Smith'.

2.3.2.2. Evaluación preliminar del efecto de los diferentes tratamientos antioxidantes sobre la calidad de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas.

Las manzanas mínimamente procesadas según 2.3.2.1. fueron tratadas químicamente con diferentes soluciones (Tabla 2.2.)

Tabla 2.2. Tratamientos aplicados.

Tratamiento/ Muestra	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)
T0 (MP)	-	-	-
T1 (agua)	0	0	0
T2	4	0	0
T3	2	0	0
T4	1	0	0
T5	0	1	1
T6	2	1	1
T7	1	1	1

C_{YM}: concentración infusión yerba mate.

C_{AC}: concentración ácido cítrico.

C_{AA}: concentración ácido ascórbico.

Se realizaron las siguientes evaluaciones a las soluciones T2 a T7 antes de aplicarlas a las manzanas:

- pH
- Sólidos solubles
- Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP

Las manzanas frescas cortadas tratadas con las soluciones T1 a T7 fueron inmediatamente analizadas, evaluándose:

- pH
- Sólidos solubles
- Parámetros instrumentales de color: L*, a*, C_{ab}* y h_{ab}, inmediatamente después de procesadas las muestras (tiempo 0), luego de 180 minutos a temperatura ambiente y luego de 24 horas en cámara a 2,0°C.
- Diferencia total de color: $\Delta E_{ab} = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$, siendo:

$$\Delta L^* = L^*_{0\text{min}} - L^*_{180\text{min}}$$

$$\Delta a^* = a^*_{0\text{min}} - a^*_{180\text{min}}$$

$$\Delta b^* = b^*_{0\text{min}} - b^*_{180\text{min}}$$

- Polifenoles totales
- Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP.
- Análisis sensorial descriptivo: un panel sensorial evaluó los atributos “Apariencia General” y “Pardeamiento”.

2.3.3. Diseño experimental

A través de la metodología de superficie de respuesta (RSM), se realizaron las experiencias de aplicación de soluciones antioxidantes a la fruta fresca cortada. Se estudiaron tres variables (concentración de ácido ascórbico, concentración de ácido cítrico y concentración de infusión de yerba mate) en 3 niveles. Las frutas fueron peladas, descorazonadas y cortadas. Posteriormente, las frutas fueron tratadas químicamente siguiendo el diseño experimental y se evaluaron diferentes atributos de calidad. Se desarrollaron modelos matemáticos que permitieron determinar las mejores combinaciones de agente antioxidante-concentración.

Además, se validaron los modelos matemáticos obtenidos, a través de la realización de ensayos complementarios en las mejores condiciones determinadas.

2.3.3.1. Límites del dominio experimental.

Los rangos entre los que se variaron las concentraciones de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico se determinaron analizando los resultados obtenidos en los ensayos preliminares (sección 2.3.2). Se concluyó que se trabajaría con concentraciones de yerba mate de entre 0,0 y 2,0% y de ácidos cítrico y ascórbico de entre 0,0 y 1,0%.

2.3.3.2. Diseño de Box-Behnken. Variables y respuestas estudiadas.

Las manzanas ‘Granny Smith’ se procesaron de acuerdo al punto 2.3.2.1, aplicando, en cada corrida experimental, la solución correspondiente al diseño experimental que a continuación se detalla, en la etapa de “Tratamiento químico”.

Se utilizó un diseño de Box-Behnken (Box y Behnken, 1960) con tres factores en tres niveles (13 corridas y 2 repeticiones en el punto central), para modelar las respuestas y optimizar la composición de una solución antioxidante para manzanas frescas cortadas. En la Tabla 2.3 se presentan las variables y niveles evaluados.

Tabla 2.3. Diseño Experimental de Box-Behnken,
Variables independientes y sus niveles.

Variable Independiente	Símbolo	Niveles de las variables codificadas ^a		
		-1	0	1
Concentración de yerba mate (C _{YM} ; %, p/v)	X ₁	0,00	1,00	2,00
Concentración de ácido cítrico (C _{AC} ; %, p/v)	X ₂	0,00	0,50	1,00
Concentración de ácido ascórbico (C _{AA} ; %, p/v)	X ₃	0,00	0,50	1,00

^aEcuaciones de codificación: $X_1 = (C_{YM} - 1,00)/1,00$; $X_2 = (C_{AC} - 0,50)/0,50$; $X_3 = (C_{AA} - 0,50)/0,50$.

Se supuso que existía una función matemática para cada respuesta en función de las tres variables independientes estudiadas de proceso.

$$Y_k = f(C_{YM}, C_{AC}, C_{AA}) \quad \text{Ecuación 2.17}$$

Donde:

- Y_k = Respuesta
- C_{YM} = concentración de la infusión de yerba mate (% p/v)
- C_{AC} = concentración de ácido cítrico (% p/v)
- C_{AA} = concentración de ácido ascórbico (% p/v)

Las respuestas evaluadas (Y_k) sobre las manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con las diferentes soluciones antioxidantes fueron:

- pH
- Actividad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP.
- Cambios de color medidos como: $\Delta x_i = x_{0min} - x_{240min}$, siendo x los parámetros instrumentales de color L^* , a^* , b^* y C_{ab}^* .
- Atributos sensoriales: pardeamiento, gusto ácido y off-flavors.

Para aproximar las funciones se usaron ecuaciones polinomiales de 2do orden (Montgomery, 1991):

$$Y_k = \beta_{k0} + \sum_{i=1}^3 \beta_{ki} X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{kii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{kij} X_i X_j \quad \text{Ecuación 2.18}$$

Donde: Y_k son las respuestas evaluadas.

β_{k0} , β_{ki} , y β_{kij} son los coeficientes de la ecuación.

X_i son las variables independientes codificadas.

Los subíndices de los coeficientes o variables indican: 1= concentración de yerba mate, 2= concentración de ácido cítrico y 3= concentración de ácido ascórbico.

2.3.3.3. Determinación de las concentraciones óptimas

Una vez desarrollados los modelos matemáticos para cada atributo de calidad en función de las concentraciones de los distintos agentes antioxidantes usados, se determinaron las concentraciones óptimas de cada uno de los agentes antioxidantes que permitieran reducir el pardeamiento enzimático e incrementar el potencial saludable sin alterar la calidad sensorial de manzanas frescas cortadas.

Para la determinación de las concentraciones óptimas de YM, AC y AA, se utilizó la metodología de Optimización de Respuestas Múltiples (Derringer y Suich, 1980), que permite la optimización simultánea de las respuestas estudiadas.

La Optimización de Respuestas Múltiples determina los valores de los factores experimentales (variables independientes, \mathbf{Xi}) que cubren las características deseadas para más de una respuesta simultáneamente. Esto se hace por la construcción de la función de deseabilidad, basada en los valores de las variables respuesta (\mathbf{Yi}), la cual se maximiza.

Para usar este procedimiento, primero se deben construir los modelos para cada respuesta en función de las variables independientes en forma individual (polinomio de segundo orden, sección 2.3.3.2.). Luego se define una función de deseabilidad para cada respuesta. La función de deseabilidad $\mathbf{d}(\mathbf{y})$ varía entre 0, para una respuesta completamente indeseable, y 1, para una respuesta completamente deseable. Esta función toma diferentes formas, dependiendo de si la respuesta debe ser maximizada, minimizada o alcanzar un valor objetivo (Statgraphics, 2006).

Cuando se realiza la Optimización de Múltiples Respuestas se combinan las respuestas múltiples en una sola función que puede ser maximizada.

Para combinar las deseabilidades de \mathbf{m} respuestas, se crea una sola función compuesta \mathbf{D} de deseabilidad. Si todas las variables respuestas son consideradas igualmente importantes,

entonces la función compuesta es la media geométrica de las deseabilidades individuales, calculada por:

$$D = (d_1 \cdot d_2 \dots d_m)^{1/m} \quad \text{Ecuación 2.19}$$

Si alguna de las respuestas son consideradas más importantes que otras, puede definirse un coeficiente de impacto I_j para cada respuesta, donde: $1 \leq I_j \leq 5$.

El valor más alto de I_j , corresponde a la respuesta más importante. La función deseabilidad global D entonces será definida como el producto de las deseabilidades individuales elevada al coeficiente de impacto:

$$D = (d_1^{I_1} \cdot d_2^{I_2} \dots d_m^{I_m})^{1/\sum I_j} \quad \text{Ecuación 2.20}$$

Un valor de D (deseabilidad global) diferente de cero implica que todas las respuestas están simultáneamente en un rango deseable; para un valor de D cercano a 1, la combinación de los diferentes criterios es globalmente óptima.

2.3.3.4. Análisis estadístico

El programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.) se utilizó para el análisis de los datos a través del análisis de varianza (ANOVA) y para comprobar la idoneidad de los modelos propuestos. Asimismo, permitió ajustar las ecuaciones polinomiales de 2° orden a los datos experimentales tanto en variables codificadas como sin codificar, graficar las superficies predichas a partir de los modelos y realizar operaciones de optimización en los rangos experimentales ensayados.

2.3.3.5. Validación de los modelos obtenidos

La validación de los modelos obtenidos para cada respuesta se realizó para valores de las variables independientes coincidentes con los valores óptimos de las concentraciones de yerba mate, ácido ascórbico y ácido cítrico determinados como se indicó en la sección 2.3.3.3.

Se elaboraron las muestras de manzana frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante en las concentraciones determinadas en la sección 2.3.3.3, y de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.3.2.1. Se evaluaron:

- Actividad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP;
- Cambios de color medidos como: $\Delta x_i = x_{0\text{min}} - x_{240\text{min}}$, siendo x los parámetros instrumentales de color L^* y a^* .
- Atributos sensoriales: pardeamiento, gusto ácido y off-flavors.

Los resultados experimentales y los valores predichos por los modelos se compararon estadísticamente para determinar diferencias significativas.

2.3.4. Ensayo de almacenamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas

Se realizó un ensayo de almacenamiento con el objetivo de evaluar el comportamiento de las manzanas frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante de YM, ÁC y ÁA en las concentraciones óptimas determinadas en la sección 2.3.3.3., y procesadas como se indicó en la sección 2.3.2.1. (muestras T). Además, se elaboraron muestras de manzanas frescas cortadas con el mismo procedimiento pero sin el tratamiento de solución antioxidante, dando lugar a las muestras control (C).

Tanto las muestras tratadas (T) como aquellas sin tratar (C) se almacenaron a 2 y 10°C. Durante el almacenamiento a ambas temperaturas, se estudió la evolución de los parámetros fisicoquímicos, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, recuentos microbiológicos y atributos sensoriales de las muestras C y T. Los mismos atributos fueron determinados en la materia prima utilizada (MP). Esto permitió analizar cada una de las respuestas en función de los tres parámetros: tratamiento químico (C y T), temperatura de almacenamiento (2°C y 10°C) y tiempo de almacenamiento (en días).

También se evaluó la incidencia del mínimo procesamiento con y sin tratamiento químico, comparando la materia prima utilizada para el estudio (MP), con las manzanas mínimamente procesadas sin tratar químicamente (C) y tratadas con la solución antioxidante óptima (T) el día de elaboración.

Las manzanas ‘Granny Smith’ mínimamente procesadas tratadas químicamente (T) y sin tratar (C) fueron almacenadas durante 18 días en cámara a 2°C y durante 15 días en cámara a 10°C (punto 7 del ítem 2.3.2.1). Las temperaturas de almacenamiento fueron seleccionadas con el fin de considerar la temperatura de refrigeración industrial (2°C) y doméstica (10°C). Los siguientes parámetros se evaluaron en la MP, y en las muestras T y C durante el almacenamiento a 2 y 10°C:

- pH
- Sólidos solubles
- Firmeza
- Parámetros instrumentales de color: L*, a*, b*, C_{ab}*, h_{ab}.
- Polifenoles totales.
- Ácido ascórbico y ácido ascórbico total (vitamina C).

- Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP.
- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales, psicrotrofos, mohos y levaduras.
- Análisis sensorial descriptivo.
- Composición de la atmósfera en el interior del envase

2.3.4.1. Análisis estadístico

El programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.) se utilizó para determinar el efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento, y del tratamiento aplicado sobre cada respuesta a través del análisis de varianza (ANOVA). También se aplicó el Test de rangos múltiples de Tukey, con un nivel de confianza del 95% para detectar diferencias significativas entre muestras. Además, para comprender las relaciones entre las distintas respuestas estudiadas, se realizó un análisis de correlación de Pearson, ya descrito en la sección 2.3.1.4.

2.3.5. Estudio de aceptabilidad

Finalmente, se realizó un estudio de aceptabilidad de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas, tratadas con la solución antioxidante de YM, ÁC y ÁA en las concentraciones óptimas determinadas en la sección 2.3.3.3., procesadas como se indicó en la sección 2.3.2.1. El objetivo principal de los tests afectivos es evaluar la respuesta personal (preferencia y/o aceptabilidad) de clientes actuales o potenciales de un producto (Meilgaard et al., 1999).

El estudio de aceptabilidad se realizó con un panel de 96 consumidores de entre 18 y 68 años, compuesto por 63 mujeres y 33 hombres, funcionarios, estudiantes o docentes de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral.

Las muestras fueron evaluadas por los consumidores, luego de 24 horas de almacenamiento en cámara a 2°C. Los consumidores evaluaron el color, sabor, textura y agrado general de las muestras en una escala hedónica estructurada de 9 puntos (1= "Me disgusta muchísimo", 5= "Me es indiferente", 9= "Me gusta muchísimo"). Cada uno de los consumidores respondió, además, si compraría un producto similar. (Figura 2.7)

Fecha: _____

Sexo: _____ Edad: _____

Usted recibirá una muestra de manzana. Por favor, evalúe sus atributos y conteste la pregunta a continuación marcando una cruz en la casilla correspondiente

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"/>	<input type="checkbox"/>
	Me disgusta muchísimo				Me es indiferente				Me gusta muchísimo
SABOR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Me disgusta muchísimo				Me es indiferente				Me gusta muchísimo
TEXTURA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Me disgusta muchísimo				Me es indiferente				Me gusta muchísimo
AGRADO 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"/>	<input type="checkbox"/>
	Me disgusta muchísimo				Me es indiferente				Me gusta muchísimo

¿Compraría un producto como este? Sí No

Muchas gracias.

Figura 2.7. Boleta de evaluación de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas, para estudio de aceptabilidad.

Los resultados del estudio de aceptabilidad se presentaron a través de gráficos de frecuencia para los puntajes obtenidos en los atributos color, sabor, textura y agrado general, que fueron agrupados dependiendo de si al consumidor le gustó la muestra (puntaje entre 6 y 9), le resultó indiferente (puntaje de 5) o no le gustó la muestra evaluada (puntaje entre 1 y 4).

2.3.6. Análisis estadístico

El programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.) se utilizó para el análisis de los datos del estudio de aceptabilidad. Se realizó un ANOVA unifactorial para evaluar si los puntajes asignados por los consumidores dependían de su franja etaria y una prueba t de Student para evaluar si dependían del sexo.

2.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS

2.4.1. Determinación de peso y diámetro

El diámetro y peso de cada manzana se determinaron utilizando una balanza analítica Metler PC 4400 Delta Range con división 0,01 g y un calibre, respectivamente.

2.4.2. Determinación de pH

La determinación de pH se realizó utilizando un pHmetro compacto Twin pH Horiba B-213 (Figura 2.8) calibrado diariamente con soluciones buffer de pH= 7 y pH= 4, según la Norma ISO 1842:1991.

La determinación de pH de las infusiones de yerba mate y de las soluciones antioxidantes se realizó directamente sobre el líquido, mientras que en el caso de las manzanas se realizó sobre su jugo extraído mediante la utilización de una prensa ajo.



Figura 2.8. pHmetro y refractómetro utilizados para la determinación del pH y los sólidos solubles, respectivamente.

2.4.3. Determinación de acidez titulable

La determinación de la acidez total de las muestras de manzana se realizó por valoración potenciométrica, de acuerdo a la Norma ISO 750:1998. Se pesaron aproximadamente 10 g de muestra previamente molida en una prensa ajo, se agregó agua destilada hasta un volumen que permitiera sumergir completamente el electrodo BOECO BA 17 (aproximadamente 100 mL) y se agitó en un baño con ultrasonido TESTLAB durante 10 minutos. Se valoró utilizando hidróxido de sodio 0,1 N hasta pH= 8,1, medido en peachímetro digital Testo 230. Los resultados se expresaron como g de ácido málico/100g de muestra, por ser el ácido málico el mayoritario en la manzana, y se calculó de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Acidez (g ác. málico/100g)} = (N_{\text{NaOH}} * PE_{\text{ác. málico}} * G_{\text{NaOH}}) / 10 * T_{\text{muestra}} \quad \text{Ecuación 2.21}$$

Donde:

- N_{NaOH} es la normalidad de la solución de NaOH expresada en [eq/L].
- $PE_{\text{ác.málico}}$ es el peso equivalente del ácido málico (67 g/eq.)
- G_{NaOH} es el gasto leído al alcanzar un pH de 8,1 [ml].
- T_{muestra} es el peso de la muestra utilizada en la valoración [g].

Las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.4.4. Determinación del contenido de sólidos solubles

Para la determinación se utilizó un refractómetro portátil digital Pocket ATAGO PAL-ALFA (Figura 2.7) autocompensado por temperatura, verificado diariamente con agua destilada. En el caso de los extractos de yerba mate y las soluciones antioxidantes la lectura se realizó directamente sobre el líquido, mientras que en el caso de las manzanas se realizó sobre el jugo obtenido mediante una prensa ajo. El resultado se expresó en grados Brix ($^{\circ}\text{Brix}$). En todos los casos las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.4.5. Determinación de firmeza en manzanas

El método más común para medir la firmeza de manzanas es el penetrómetro operado manualmente (conocido como Effegi). Éste registra la fuerza máxima necesaria para forzar un cilindro metálico con un diámetro determinado, a penetrar la pulpa de la manzana una distancia determinada. Es un método destructivo (De Belie et al., 2000).

En este caso, la determinación instrumental de la firmeza se realizó a través de ensayos de penetración con un penetrómetro Penefel DFT 14 (Digital Firmness Tester Agro Technologie). La firmeza se determinó sobre la pulpa de la fruta pelada y cortada en octavos. Cada octavo se colocó sobre una base de forma específica para permitir mantener su estabilidad durante la penetración. Se utilizó una punta de 11mm y el resultado se expresó en Newton (N). Las determinaciones se realizaron por duplicado en cada octavo.

2.4.6. Determinación del color

Existe un gran número de métodos disponibles para medir el color. Éstos van desde simples comparaciones visuales subjetivas a instrumentos objetivos diseñados específicamente para medir color y diferencias en el color (colorímetros o espectrofotómetros). Cualquier método que elimina el factor humano como un factor decisivo en la determinación del color, puede considerarse objetivo (Gould, 2013).



Figura 2.9. Espectrofotómetro utilizado para la medición del color.

La evaluación instrumental del color se realizó utilizando un espectrofotómetro Minolta CM 508-d (Figura 2.9), en las siguientes condiciones: iluminante D65, ángulo del observador 10°, SCE (componente especular excluido), evaluándose los parámetros CIELab y sus índices derivados: ángulo de tono y croma. La luminosidad varía de $L^*=100$: blanco; a $L^*=0$: negro; el parámetro a^* indica el grado de componente rojo o verde ($a^*>0$: rojo; $a^*<0$: verde) y b^* determina el grado de componente amarillo o azul ($b^*>0$: amarillo $b^*<0$: azul). Por otro lado, el espacio $L^*C_{ab}^*h_{ab}$, usa el mismo diagrama que el espacio $L^*a^*b^*$, pero en coordenadas cilíndricas (Figura 2.10). La luminosidad es la misma en ambos sistemas, y por su parte C_{ab}^* (croma) y h_{ab} (ángulo de tono) son definidos a partir de a^* y b^* donde $C_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$ y $h_{ab} = \arctg(b^*/a^*)$ (0°: rojo; 90° amarillo; 180°: verde; 270°: azul) (Piagentini et al., 2012).

El color de las frutas se evaluó sobre la superficie cortada (10 lecturas por muestra), mientras que en las infusiones de yerba mate la determinación se realizó por triplicado.

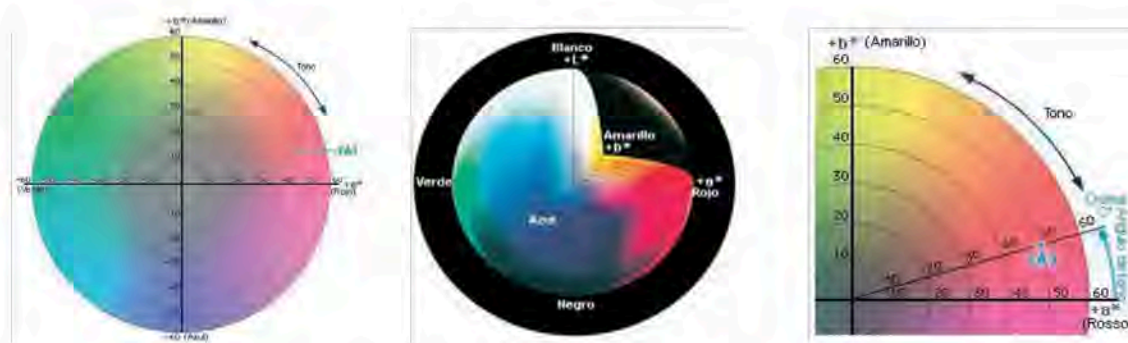


Figura 2.10. Representación gráfica de los espacios de color $L^*a^*b^*$ y $L^*C^*ab^*h^*_{ab}$.

2.4.7. Preparación del extracto de manzana para la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante

Se pesaron 5 g de cada muestra de manzana a analizar, previamente molida. Se agregó 50 mL de una solución extractante de acetona/agua en una proporción 80/20, y se sonicaron durante 15 min en un baño con ultrasonido TESTLAB. Posteriormente se centrifugó a 12000 g a 4°C durante 15 minutos. Se separó el sobrenadante y se lo utilizó para la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las muestras de manzanas. Se realizaron dos extracciones por muestra.

2.4.8. Determinación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo a través del método de Folin-Ciocalteu adaptado por Singleton y Rossi (1965), mediante el cual la oxidación de fenoles es llevada a cabo por derivados del reactivo molibdicotungstato-fosfórico, bajo condiciones alcalinas alcanzadas con carbonato de sodio y en la cual la absorbancia máxima alcanzada para el producto es a 760 nm, medidas con un espectrofotómetro. Se utilizó ácido gálico (AG) como reactivo estándar.

2.4.8.1. Reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C) modificado

25 g de tungstato de sodio (Na_2WO_4), 5,0037 g de ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{14}$), 12,5 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) y aproximadamente 190 mL de agua destilada se calentaron a reflujo por 2 horas a ebullición controlada. Se dejó en reposo durante 12 h y luego se llevó a un volumen total de 250 mL con agua destilada. El reactivo se mantuvo protegido de la luz y del contacto con materia orgánica.

2.4.8.2. Solución de carbonato de sodio

Se preparó una solución acuosa de carbonato de sodio al 10%.

2.4.8.3. Curva de calibración de ácido gálico.

Se preparó una solución madre de ácido gálico p.p.a. 100 ppm y a partir de ésta se prepararon cinco diluciones de concentraciones: 10, 20, 40, 60 y 80 ppm. 1 mL de cada solución se hizo reaccionar como se describe en el punto (2.4.8.4). Graficando la absorbancia a 760 nm en función de la concentración de las soluciones se obtuvo una curva de calibración (Figura 2.11). La curva se realizó por triplicado.

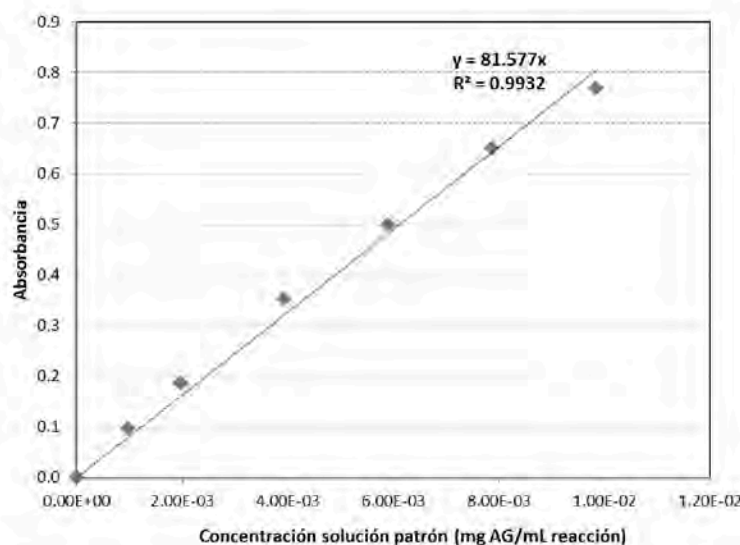


Figura 2.11. Curva de calibración de ácido gálico para la determinación del contenido de polifenoles totales.

2.4.8.4. Medida de polifenoles totales

En tubos Falcon de 15 mL de capacidad se colocó un volumen predeterminado (de 0,05 a 0,5 mL dependiendo de la concentración estimada de polifenoles en la muestra) de extracto de manzana, obtenido según punto 2.4.7, o de extracto de yerba mate, obtenido según punto 2.3.1.1, 0,5 mL de reactivo de F-C modificado, 1 mL de solución de Na_2CO_3 y el volumen de agua destilada necesario para completar un volumen total de 10 mL. Los tubos se agitaron en un vortex VI plus BOECO, se centrifugaron durante 15 minutos y se dejaron reaccionar durante otros 15 minutos. Posteriormente se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Genesis 5 (Milton Roy, Ivyland, EE.UU.). Se preparó un blanco sustituyendo el volumen de extracto por agua destilada, que se hizo reaccionar y se midió en las mismas condiciones. A la medida de absorbancia obtenida para el extracto se le restó la obtenida para el blanco.

La concentración de polifenoles totales se calculó mediante las Ecuaciones 2.22 y 2.23.

$$\text{PT en manzanas (mg } \dot{\text{A}}\text{GE/100g)} = ((A - A_{\text{bco}}) * 10 * 50 * 100) / (81,58 * V_e * T) \quad \text{Ecuación 2.22}$$

$$\text{PT en extracto de YM (mg } \dot{\text{A}}\text{GE/100mL)} = ((A - A_{\text{bco}}) * 10 * 100) / (81,58 * V_e * D) \quad \text{Ecuación 2.23}$$

Donde: PT: polifenoles totales (mg $\dot{\text{A}}\text{GE/100g}$, o mg $\dot{\text{A}}\text{GE/100mL}$)

A: absorbancia de la muestra a 760 nm.

A_{bco} : absorbancia del blanco a 760 nm.

81,58: pendiente de la curva de calibración (unid Abs.mL reacción/mg AG).

V_e (mL): volumen de extracto (de manzana o yerba mate) agregado al tubo Falcon para la reacción.

T (g): toma de manzana utilizada para la preparación del extracto.

D: dilución aplicada al extracto de YM para la reacción, cuando sea necesario.

Los análisis se realizaron por triplicado y el resultado se expresó en miligramos de ácido gálico equivalente ($\dot{\text{A}}\text{GE}$) por 100 gramos de fruta fresca en el caso de la manzana o en miligramos de $\dot{\text{A}}\text{GE}$ por 100 mL de infusión de yerba mate.

2.4.9. Determinación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó a través de la capacidad secuestrante de radicales libres usando un radical libre disponible comercialmente (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) DPPH* según Brand-Williams et al. (1995), y por medio de la técnica del poder antioxidante de reducción del hierro (FRAP) adaptado de Benzie y Strain (1996).

2.4.9.1. Método del radical DPPH*

El radical DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es uno de los pocos radicales orgánicos nitrogenados estables. Tiene un color púrpura intenso (Prior et al., 2005).

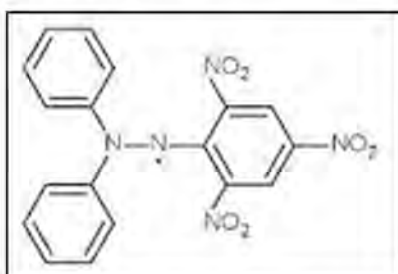
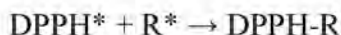


Figura 2.12. Estructura del radical DPPH*.

El método se basa en la capacidad reductora de los antioxidantes sobre el DPPH*. La reducción del DPPH* se determina registrando el descenso de la absorbancia a una longitud de onda característica (517 nm) durante la reacción. En su forma radical el DPPH* absorbe a 517

nm, pero a medida que es reducido por un antioxidante (AH) u otro radical (R*) la absorción desaparece (Brand-Williams 1995):



Por lo tanto, es posible cuantificar la capacidad captadora de radical libre que poseen determinados compuestos mediante la determinación del grado de decoloración que provocan a una solución metanólica de DPPH*.

La actividad antirradicalaria de los extractos se cuantificó a través de la medida de la disminución de la absorbancia de una solución metanólica de DPPH* 30 mg/L a 517 nm.

2.4.9.2. Solución metanólica de DPPH*

Se preparó una solución de 0,03 g/L de DPPH* en metanol. La solución se preparó inmediatamente antes de utilizarla y se mantuvo al resguardo de la luz.

2.4.9.3. Medida de la capacidad antioxidante

Se hicieron reaccionar tres volúmenes de extracto de manzana (2.4.7) o yerba mate (2.3.1.1): 0,1; 0,2 y 0,3 mL para las manzanas y 0,05; 0,1 y 0,15 mL para las infusiones de yerba mate con 3,9 mL de solución metanólica de DPPH* (2.4.9.11) en tubos de ensayo. Se realizó un blanco para cada volumen de extracto que se sustituyó por metanol. Los tubos se agitaron en un vortex V1 plus BOECO y se guardaron al resguardo de la luz durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo se midió la absorbancia a 517 nm con un espectrofotómetro Genesis 5 (Milton Roy, Ivyland, EE.UU.).

La actividad antioxidante se expresó como capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC) utilizando la siguiente Ecuación 2.24 (Lim et al., 2007):

$$\text{AEAC [mg } \text{ÁA/100g o 100ml]} = \text{IC}_{50(\text{ÁA})} / \text{IC}_{50(\text{MUESTRA})} * 10^5 \quad \text{Ecuación 2.24}$$

Donde:

- $\text{IC}_{50(\text{ÁA})}$ es la cantidad de ácido ascórbico en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*. Se obtiene de la gráfica construida utilizando la metodología descrita anteriormente pero sustituyendo los extractos por soluciones estándar de ácido ascórbico (ÁA) (mg ÁA/mL reacción = 0 – 0,0010 – 0,0021 – 0,0031 – 0,0041 – 0,0052). Siempre se trabajó con 0,1 mL de la solución estándar y 3,9 mL de la solución metanólica de DPPH* obteniéndose la curva de porcentaje de DPPH*

remanente vs. Concentración (mg de ÁA/mL de reacción), que se observa en la Figura 2.13. El valor determinado fue: $IC_{50}(\text{ÁA}) = 2.85 \cdot 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

- IC_{50} muestra es la cantidad de muestra en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de porcentaje de DPPH* remanente vs. Concentración (mg de muestra/mL de reacción) que se realizó para cada muestra.

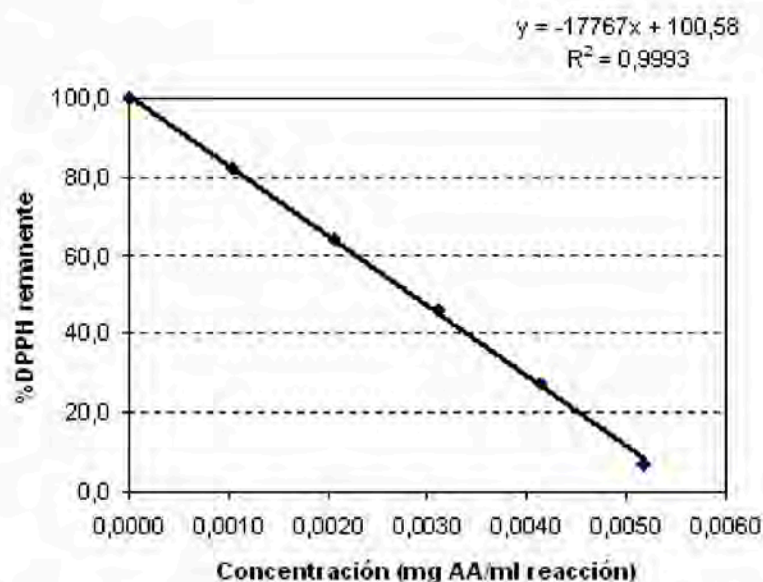


Figura 2.13. Curva de calibrado con ácido ascórbico del % de DPPH* remanente.

El porcentaje de DPPH* remanente se calcula de la siguiente forma:

$$\% \text{ DPPH remanente} = (A_{\text{muestra}}/A_{\text{control}}) \cdot 100 \quad \text{Ecuación 2.25}$$

Donde: A_{muestra} es la absorbancia de la muestra

A_{control} es la absorbancia del control (metanol)

2.4.9.4. Método FRAP (ferric reducing-antioxidant power)

El ensayo de FRAP se realizó de acuerdo al procedimiento de Benzie y Strain (1996) modificado. El método de FRAP se desarrolló para determinar la capacidad reductora del hierro de los fluidos biológicos y las soluciones acuosas de compuestos puros y consiste en medir el cambio en la absorbancia a 593 nm debido a la formación del compuesto azulado Fe (II)-tripiridiltriazina a partir de la forma incolora oxidada del Fe (III), por la acción de los antioxidantes donadores de electrones (Rodríguez Vaquero et al., 2010).

2.4.9.4.1. Reactivo de FRAP

El reactivo de FRAP consiste en una solución de buffer acetato 300 mM (pH 3,6), 2,4,6-tris 2-piridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM en HCl 40 mM y solución de cloruro de hierro (III) 20 mM, en una proporción de 10:1:1 en volumen, respectivamente. El reactivo de FRAP se preparó cada día de análisis y se mantuvo a 37°C hasta el momento de su utilización.

2.4.9.4.2. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la capacidad antioxidante en manzanas

Se preparó una solución madre de sulfato de hierro (II) aproximadamente 1500 mM y a partir de ésta se prepararon 9 diluciones de concentraciones: 150, 300, 450, 600, 750, 900, 1050, 1200 y 1350 mM.

50 μ L de cada solución se hicieron reaccionar como se describe en 2.4.9.4.4. La curva se realizó por triplicado. Graficando la absorbancia a 593 nm en función de la concentración de las soluciones de sulfato de hierro (II) se obtuvo la curva de calibración (Figura 2.14).

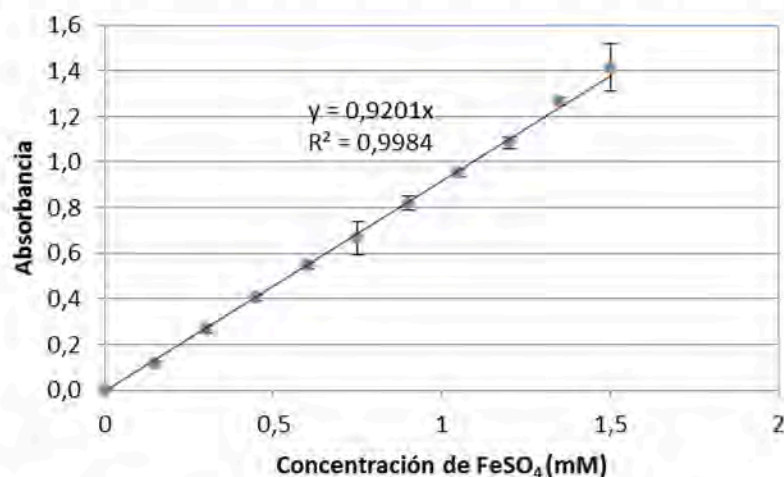


Figura 2.14. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP en muestras de manzana.

2.4.9.4.3. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la capacidad antioxidante en infusiones de yerba mate

Se preparó una solución madre de sulfato de hierro (II) aproximadamente 1000 mM y a partir de ésta se prepararon 9 diluciones de concentraciones: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mM.

50 μ L de cada solución se hicieron reaccionar como se describe en 2.4.9.4.5. La curva se realizó por triplicado. Graficando la absorbancia a 593 nm en función de la concentración de las soluciones de sulfato de hierro (II) se obtuvo la curva de calibración (Figura 2.15).

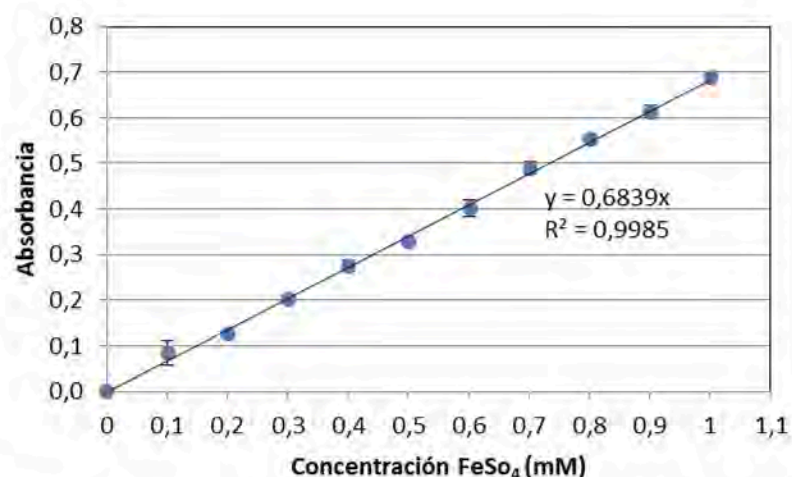


Figura 2.15. Curva de calibración de sulfato de hierro (II) para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP en infusiones de yerba mate.

2.4.9.4.4. Medida de la capacidad antioxidante en muestras de manzana

La medida de la capacidad antioxidante en manzanas por el método de FRAP se ha evaluado utilizando distintas proporciones de extracto y reactivo de FRAP y distintos tiempos de extracción (Aguayo et al., 2010; Bouayed et al., 2011; Khanizadeh et al., 2008; Ceymann et al., 2012).

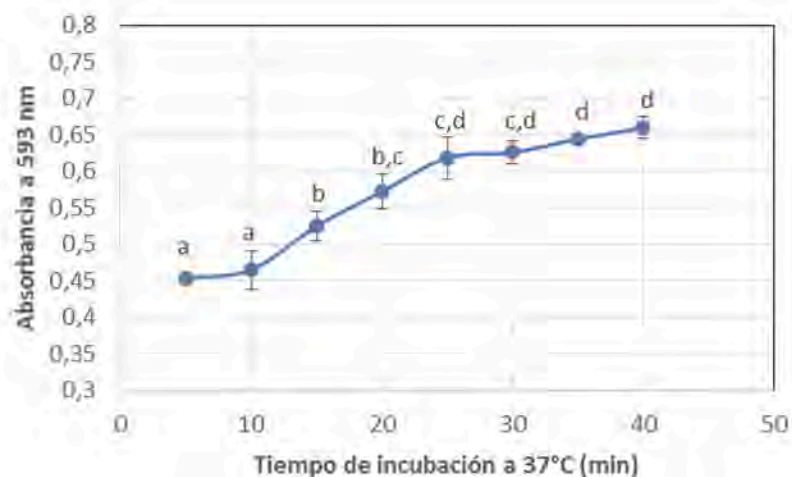


Figura 2.16. Absorbancia a 593 nm en función del tiempo de incubación a 37°C durante la puesta a punto del método de FRAP para manzanas.

Las barras representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey).

Para la presente tesis se seleccionaron los siguientes volúmenes de reacción: 50 μL de extracto de manzana, 130 μL de agua destilada y 900 μL de reactivo de FRAP y se evaluó el cambio en la absorbancia a 593 nm con el tiempo de incubación a 37°C, que se evaluó entre 5 y 40 minutos. De acuerdo a los resultados obtenidos (Figura 2.16), la capacidad antioxidante

aumenta con el tiempo de incubación hasta un tiempo de 25 minutos y a partir de este tiempo el aumento no es estadísticamente significativo ($p < 0,05$). El tiempo de incubación se fijó en 30 minutos.

En tubos Eppendorf se agregaron 50 μL de extracto (2.4.7), 130 μL de agua destilada y 900 μL de reactivo de FRAP a 37°C. Se agitó en vortex VI plus BOECO y se incubó en estufa a 37°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda de 593 nm. Se midió la absorbancia de un blanco preparado en las mismas condiciones pero sustituyendo los 50 μL de extracto de manzana por agua destilada. Todas las medidas se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron en $\mu\text{moles Fe}/100\text{g}$.

2.4.9.4.5. Medida de la capacidad antioxidante en infusiones de yerba mate

La determinación se realizó de acuerdo a la modificación del método de Benzie y Strain (1996) propuesta por Rodríguez Vaquero et al. (2010). En tubos Eppendorf se agregaron 50 μL de la infusión (2.3.1.1) y 1,5 mL de reactivo de FRAP a 37°C. Se agitó en vortex VI plus BOECO y se incubó en estufa a 37°C durante 4 minutos. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda de 593 nm. Se midió la absorbancia de un blanco preparado en las mismas condiciones sustituyendo los 50 μL de infusión de YM por agua destilada. Todas las medidas se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron en $\mu\text{moles Fe}/100\text{mL}$.

2.4.10. Determinación de ácido ascórbico y vitamina C

El ácido L-ascórbico (ÁA), la principal forma biológicamente activa de la vitamina C, es oxidado reversiblemente a ácido L-dehidroascórbico (ÁDHA). Esta última forma también exhibe actividad biológica pero una oxidación posterior e irreversible genera ácido dicetoglucónico, que no tiene actividad biológica (Figura 2.17). Por lo tanto, la vitamina C, como el ácido ascórbico total (ÁAT) en las frutas, puede asumirse igual a la suma de los contenidos de ÁA y ÁDHA (Hernández et al., 2006; Van de Velde et al., 2012).

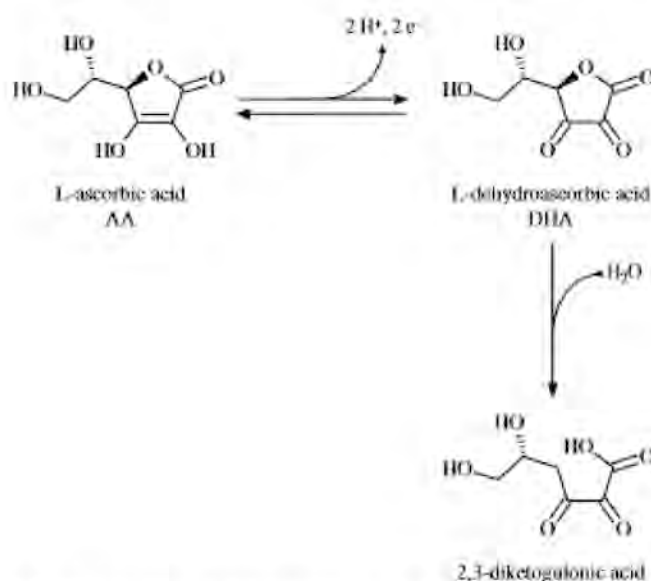


Figura 2.17. Oxidación del ácido L-ascórbico (Hernández et al., 2006).

La determinación de ácido ascórbico y vitamina C se realizó de acuerdo a una adaptación del método propuesto por Van de Velde et al. (2012).

2.4.10.1. Equipamiento utilizado

Se utilizó un equipo de cromatografía líquida KONIK KNK-500-A series, unido a un detector UV de longitud de onda variable (UVIS 200 Konik Instruments, Barcelona, España). Las muestras se inyectaron en el sistema cromatográfico a través de un inyector manual Rheodyne 7725i, provisto de un loop de 20 μ L (Rheodyne, Berkely, CA, EE.UU.).

2.4.10.2. Fase móvil

La fase móvil consistió de: 95% buffer acetato de sodio/ácido acético 0,03 M y 5% metanol. El pH se ajustó a 5,8 y la fase móvil fue filtrada a través de una membrana Millipore de 0,45 μ m y desgasificada usando vacío.

2.4.10.3. Extracción y determinación

Se tomaron 25 g de muestra, se le agregaron 50 mL de solución extractante de ácido metafosfórico (30 g/L) y ácido acético (80 g/L), y se homogeneizaron durante 1 minuto. Posteriormente la mezcla se sonicó en baño con ultrasonido TESTLAB y se centrifugó a 12000g durante 20 minutos a 4°C.

Para la determinación del ácido ascórbico (ÁA) se tomó 1 mL del sobrenadante, se le agregó 1 mL de fase móvil y se filtró en membrana Millipore de 0,45 μ m y se inyectó en el HPLC. Para la determinación de la vitamina C (ÁAT) se tomaron 2 mL del sobrenadante y se

le agregó 0,5 mL de solución de DL-ditiotreitol (DTT) 5 g/L, preparada en fosfato de potasio dibásico 2,58 M, la mezcla se dejó reaccionar durante 2 horas en la oscuridad. Luego, se tomó 1 mL de la mezcla de sobrenadante y solución de DTT y se le agregó 1 mL de fase móvil, se filtró en membrana Millipore de 0,45 μ M y se inyectó en el HPLC.

El contenido de ácido dehidroascórbico (ÁDHA) de las muestras se calculó como la diferencia entre los contenidos de ÁAT y ÁA (Sánchez-Mata et al., 2000). Todas las muestras se protegieron de la luz y se manipularon en baño de hielo para evitar pérdidas por oxidación.

2.4.10.4. Curva de calibración

Se preparó una solución madre de ácido ascórbico 4 g/L, pesando 0,1 g de ácido ascórbico previamente secado durante 1 hora en estufa a 105°C, que se disolvió en 25 mL de solución extractante. La solución madre se protegió del contacto con la luz y se almacenó a 4°C hasta su uso. A partir de la solución madre se realizaron las diluciones correspondientes para la realización de la curva de calibración. La ecuación de la curva de calibración obtenida es:

$$\text{Área (mAU.s)} = 78 * C_{AA} (\mu\text{g/ml}) + 85.9 \quad \text{Ecuación 2.26}$$

2.4.10.5. Condiciones cromatográficas

La separación se realizó en una columna de fase reversa Phenomenex Gemini 5 μ C18 110A con un guardacolumna (Phenomenez Inc CA, EE.UU.), a temperatura ambiente (25°C). La velocidad de flujo se fijó en 1,15 mL/min y las medidas se realizaron a 251 nm.

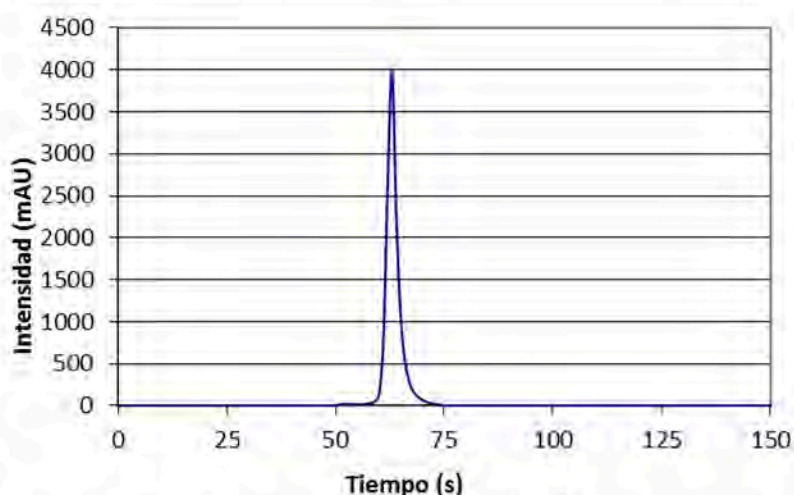


Figura 2.18. Cromatograma de vitamina C (ÁAT) obtenido para manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas luego de 18 días de almacenamiento a 2°C.

2.4.11. Análisis sensorial

La evaluación sensorial ha sido definida como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar aquellas respuestas a los productos tal como se perciben a través de los sentidos de la vista, el olfato, el gusto y el oído (Stone y Siedel, 2004).

Las técnicas de evaluación sensorial se pueden dividir en tres grandes grupos (Lawless y Heymann, 2010):

- I. Tests de diferencia, que se utilizan para determinar si existen diferencias perceptibles entre dos productos;
- II. Análisis descriptivo, que cuantifica las intensidades de características sensoriales percibidas por un producto; y
- III. Pruebas afectivas, que tienen como objetivo cuantificar el grado o desagrado de un producto.

En el desarrollo de la presente tesis se aplicaron tanto la técnica de análisis descriptivo como pruebas afectivas, como ya se ha mencionado en el estudio de aceptabilidad (2.3.5.)

2.4.11.1. Análisis sensorial descriptivo

Involucra la detección (discriminación y descripción) de características sensoriales cualitativas y cuantitativas de un producto por un panel de jueces. Los aspectos cualitativos de un producto incluyen: aroma, apariencia, flavor, textura, retrogusto y sonido, que lo distinguen de otros. Los jueces sensoriales cuantifican estos aspectos del producto para facilitar la descripción de los atributos percibidos (Murray et al., 2001).

Los jueces que integran el panel son previamente seleccionados, de acuerdo a su capacidad para detectar y describir los atributos sensoriales de una muestra, y son entrenados para diferenciar y cuantificar la intensidad de estos atributos y definir en qué grado cada característica está presente en la muestra (Meilgaard et al., 1999).

El análisis sensorial descriptivo fue realizado por un panel entrenado del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA-FIQ-UNL).

En las evaluaciones participaron 8 jueces del panel, quienes previo a la evaluación elaboraron por consenso una lista de los atributos sensoriales presentes en las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas y sin tratar. En la Tabla 2.4 se presentan todos los atributos evaluados y sus definiciones, que fueron tomadas y adaptadas de Piagentini (1999) y Corollaro et al. (2013).

Tabla 2.4. Atributos sensoriales utilizados para el análisis sensorial descriptivo de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas y sus definiciones.

Atributo	Definición
Apariencia general	Relacionado con el aspecto general o impacto visual del producto, comprende aspectos como frescura, color, brillo y/o deshidratación superficial, todos percibidos por la vista.
Pardeamiento	Relacionado a la presencia de tonos marrones o pardos.
Flavor característico	Relacionado con la combinación de sensaciones olfativas, gustativas y trigeminales percibidas durante la degustación, que caracterizan a las manzanas ‘Granny Smith’.
Gusto ácido	Sensación de gusto ácido.
Astringencia	Sensación residual de sequedad en la superficie de la lengua.
Crujencia	Sonido producido por la muestra en la primera masticación realizada con los dientes frontales.
Jugosidad	Cantidad de jugo liberada por la muestra durante las primeras tres masticaciones.
Off-flavors	Aparición o desarrollo de cualquier sabor extraño, diferente al sabor natural del producto.
Off-odors	Aparición o desarrollo de cualquier olor extraño, diferente al olor natural del producto.

Los jueces recibieron un entrenamiento específico en los atributos “Apariencia general” y “Pardeamiento” del producto mínimamente procesado que realizaron en 5 sesiones de 30 minutos. Manzanas con distinto grado de pardeamiento se emplearon durante las sesiones de entrenamiento de los jueces. Las muestras utilizadas como referencia y sus puntajes asignados se presentan en la Figura 2.19 y la Tabla 2.5, respectivamente. Observando las referencias se puede decir que manzanas con apariencia general mayor o igual a 6 y valores de pardeamiento inferiores a 4, presentan una “buena” apariencia.

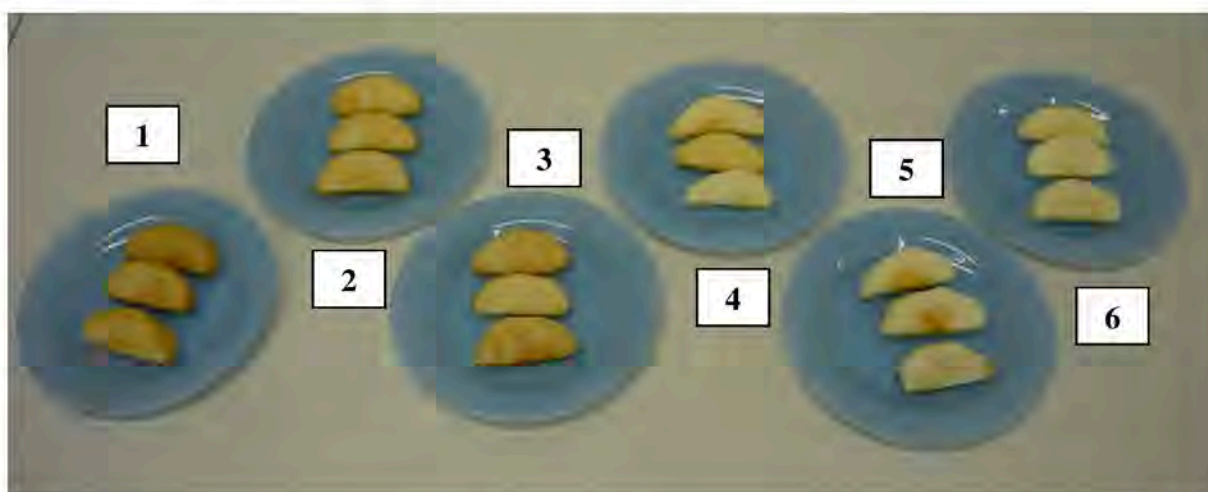


Figura 2.19. Manzanas frescas cortadas con distinto grado de desarrollo de pardeamiento utilizadas como referencia durante el entrenamiento de los jueces.

Tabla 2.5. Puntajes de “Apariencia general” y “Pardeamiento” asociados a las muestras de referencia presentadas en la Figura 2.19.

N° Muestra referencia	Apariencia general	Pardeamiento
1	1	9
2	3	7
3	3,5	6,5
4	5	5
5	5,5	4,5
6	9	1

Nombre: _____ Fecha: _____

Nº muestra: _____

Por favor, evalúe las muestras que se le presentan con respecto a los atributos mencionados a continuación. Coloque una línea vertical sobre la escala para indicar su calificación, y el número correspondiente a la muestra evaluada.

Abra un envase por vez y evalúe el atributo **off-odors** inmediatamente, luego continúe con la evaluación de los demás atributos.

Off-odors	— ————— —
	Apenas perceptible Intenso
Apariencia general	— ————— —
	Mala Muy buena
Pardeamiento	— ————— —
	Muy poco Mucho
Flavor característico	— ————— —
	Apenas perceptible Intenso
Gusto ácido	— ————— —
	Apenas perceptible Intenso
Astringencia	— ————— —
	Muy poca Mucha
Crujencia	— ————— —
	Muy poca Mucha
Jugosidad	— ————— —
	Muy poca Mucha
Off-flavors	— ————— —
	Apenas perceptible Intenso

Figura 2.20. Boleta de evaluación sensorial para análisis sensorial descriptivo.

El análisis sensorial descriptivo de las manzanas 'Granny Smith' mínimamente procesadas se realizó en el Área para Evaluación Sensorial que dispone el Instituto de Tecnología de Alimentos. Se disponen de 8 cabinas realizadas en madera recubierta con laminado plástico de color crema. Cada cabina consiste de una mesada ubicada a 80 cm del suelo con 3 paneles (2 laterales y 1 en el fondo), de 60 cm de altura por encima de la mesada. Cada panelista se ubica frente a la mesada correspondiente sin posibilidad de ver a otros panelistas. La iluminación se realiza con luz fluorescente, y la ventilación en la sala es adecuada.

Cada panelista evaluó las muestras identificadas con números aleatorios de tres cifras y completó una boleta de evaluación similar a la de la Figura 2.20. La intensidad de cada atributo se indicó colocando una marca sobre una escala lineal no estructurada, con términos ancla ubicados a 1 cm de cada extremo de la línea de 10 cm. La cuantificación de las respuestas se realizó midiendo la distancia desde el extremo izquierdo hasta la marca señalada por el panelista.

2.4.12. Análisis microbiológico

Se utilizó el método de recuento en placa. Para esto, 10 g de manzana o de infusión de YM se trituraron u homogeneizaron en 90 mL de agua de peptona al 0,1% mediante el uso de un Stomacher. Inmediatamente se realizaron las diluciones decimales necesarias con el mismo diluyente y se sembraron en placas por duplicado, para cada recuento. Posteriormente se adicionaron los medios de cultivo correspondientes, fundidos y termostatizados. Las placas se incubaron en forma invertida a las temperaturas y durante los tiempos requeridos para cada recuento. En todos los casos, al término de la incubación se realizaron las observaciones de las placas y los resultados, correspondientes al promedio del número de colonias de la dilución elegida para el conteo multiplicada por la inversa de dicha dilución, se expresaron en unidades formadoras de colonias (UFC)/g.

2.4.12.1. Aerobios mesófilos totales (AMT).

Se utilizó Agar para Recuento en Placa (PCA) como medio de cultivo y las placas sembradas se incubaron a 30°C durante 48 horas.

2.4.12.2. Microorganismos psicrotrofos.

Se utilizó Agar para Recuento en Placa (PCA) como medio de cultivo y las placas sembradas se incubaron a 7°C durante 10 días.

2.4.12.3. Mohos y levaduras.

Se utilizó Agar Extracto de Levadura, glucosa y cloranfenicol como medio de cultivo y las placas sembradas se incubaron a 28°C durante 3 a 5 días.

2.4.13. Determinación de la composición gaseosa en el interior del envase

El análisis se realizó por cromatografía en fase gaseosa en un cromatógrafo SRI, modelo 8610, usando un detector de conductividad térmica (TCD). La respuesta de este detector es proporcional a la diferencia de conductividad térmica entre el gas portador y la muestra. Cuanto mayor sea esta diferencia, mayor será la linealidad de la respuesta. La selectividad del TCD es universal.

Se evaluó la composición del espacio de cabeza durante el almacenamiento a 2 y 10°C de tres envases con muestras control y tres con manzanas tratadas. Para poder llevar a cabo el análisis de la composición gaseosa, cada envase estuvo dispuesto con un septum para permitir extraer la muestra gaseosa del espacio de cabeza mediante la utilización de una jeringa Hamilton.

Para analizar la composición gaseosa del envase se inyectó 1 mL de gas extraído del envase con una jeringa Hamilton. Se usó una columna CTRI (concéntrica) Cat. N°8700 que permitió la determinación simultánea de oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno. La temperatura del horno se fijó en 55°C y el inyector y el detector se mantuvieron en 110°C. El flujo del gas portador utilizado (H₂) se mantuvo en 65 mL/min. La señal del detector se procesa directamente con el programa de integración cromatográfica Peaksimple II versión 3.91.

2.4.13.1. Determinación de la concentración de los gases.

Se utilizó el método de normalización de las áreas. Este método determina el porcentaje de un compuesto en una mezcla y consiste en referir el contenido de un determinado compuesto al total de áreas del cromatograma. En este caso, las áreas de los compuestos no son directamente proporcionales a la composición porcentual, es decir, el detector tiene respuestas diferentes para los distintos compuestos, por lo tanto, es necesario determinar los factores de respuesta para cada sustancia. Una vez determinados, estos factores de respuesta pueden usarse para calcular la composición porcentual (Ecuación 2.27).

$$\% i = \frac{(A_i / F_{Ri})}{\sum (A_i / F_{Ri})} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 2.27}$$

Donde: %i = la concentración del componente i (mL/100mL)

$i = \text{CO}_2, \text{O}_2 \text{ o } \text{N}_2$

$A_i = \text{Área bajo el pico de } i \text{ (mV.s)}$

$F_{Ri} = \text{Factor de respuesta del componente } i \text{ (mV.s/mL)}$

2.4.13.2. Determinación de los factores de respuesta

Para la determinación de los factores de respuesta del CO_2 , O_2 y N_2 , se inyectaron cantidades exactas de cada uno de ellos, dentro del rango de trabajo. Los valores de las áreas del pico correspondiente se grafican en función del volumen conocido inyectado. Esta gráfica debería ser lineal y pasar por el origen (Ecuación 2.28). La pendiente de dicha recta es el factor de respuesta correspondiente.

$$A_i = F_{Ri} * V_i \quad \text{Ecuación 2.28}$$

Donde: $V_i = \text{volumen inyectado de } i \text{ (ml)}$

La determinación de los factores de respuesta se realizó utilizando un gas patrón con las siguientes características:

- Tipo de gas: mezcla.
- Composición porcentual: 5,2% CO_2 ; 21,2% O_2 ; 73,6% N_2 .
- Certificado de análisis N°55297, Laboratorio de Control de Calidad de AGA S.A. División de Gases Especiales, planta Pilar (Buenos Aires).

De esta manera, como se observa en las Figuras 2.21, 2.22 y 2.23, se obtuvieron los factores de respuesta (Tabla 2.6).

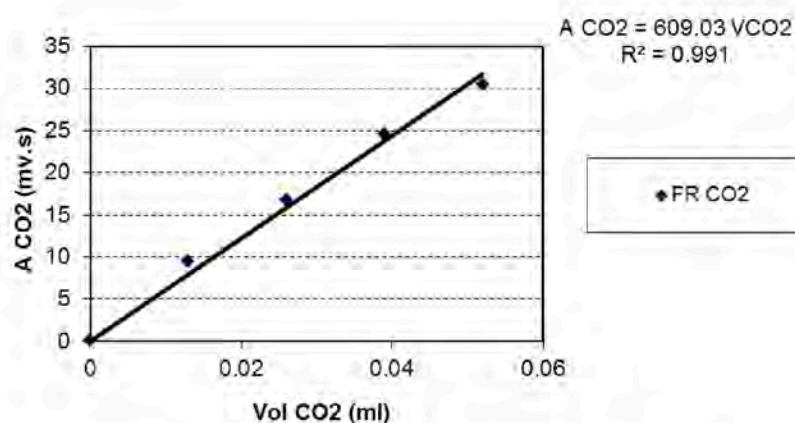


Figura 2.21. Curva de calibración para CO_2 .

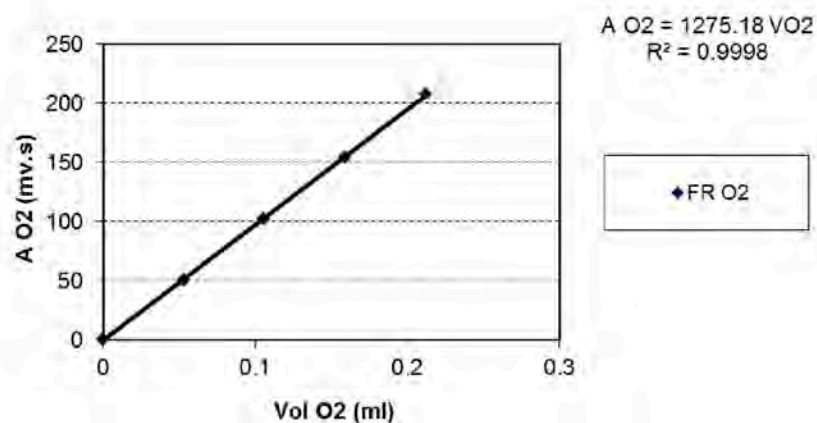


Figura 2.22. Curva de calibración para O₂.

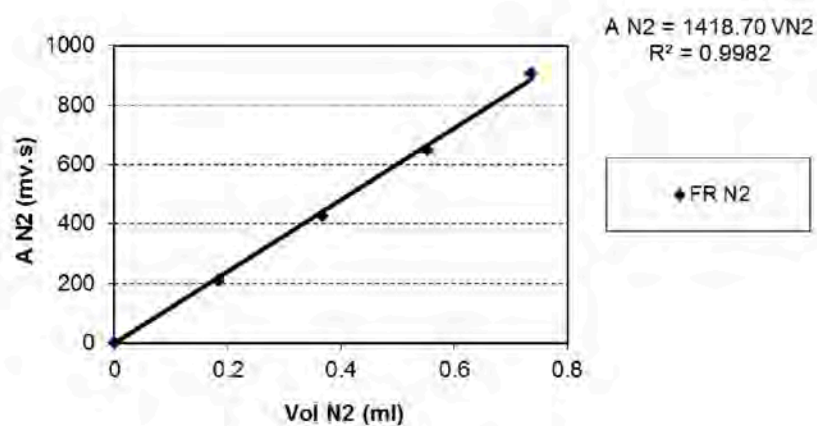


Figura 2.23. Curva de calibración para N₂.

Tabla 2.6. Factores de respuestas (F_{Ri}) y coeficientes de determinación (R^2).

GAS	F_{Ri} (mV.s/mL)	R^2
CO ₂	609,03	0,9910
O ₂	1275,18	0,9998
N ₂	1418,70	0,9982

3. Resultados y Discusión

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

Para el estudio se utilizaron cinco variedades manzanas: dos de gran importancia comercial y alto requerimiento de horas de frío, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’, y tres variedades adaptadas al cultivo en la zona centro-Este de la Provincia de Santa Fe, con bajo requerimiento de horas de frío, ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’.

Inicialmente se realizó una caracterización de las cinco variedades utilizadas. En la Figura 3.1 se presentan los resultados de peso y diámetro obtenidos.

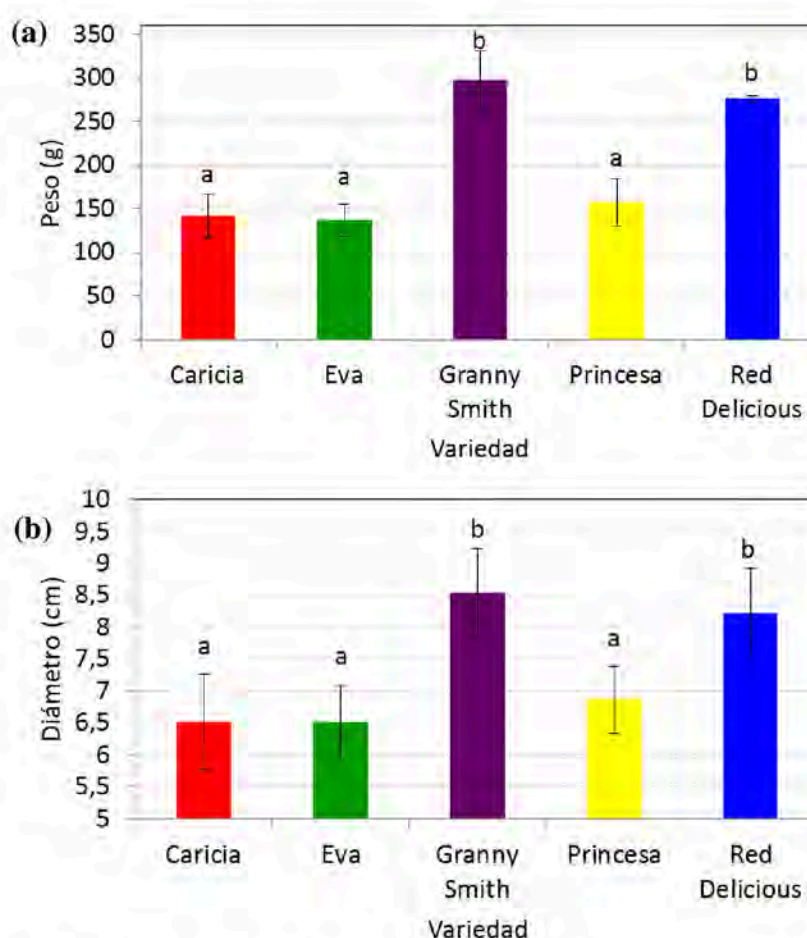


Figura 3.1. Peso (a) y diámetro (b) de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.

Las barras representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre variedades. ($p < 0.05$, test de Tukey).

Las variedades ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’ tienen pesos y tamaños significativamente menores ($p < 0.05$) que ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’. Los pesos de las manzanas ‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’ variaron entre 106 y 182 g, mientras que las manzanas ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ pesaron entre 274 y 321 g.

Tabla 3.1. pH, sólidos solubles y firmeza de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.

Variedad	pH	Sólidos solubles (°Brix)	Firmeza (N)
‘Caricia’	(3,50 ± 0,13) ^b	(13,4 ± 0,6) ^a	(48,1 ± 12,5) ^a
‘Eva’	(3,81 ± 0,07) ^c	(13,8 ± 0,3) ^a	(53,9 ± 3,2) ^{a,b}
‘Granny Smith’	(3,31 ± 0,05) ^a	(13,8 ± 0,4) ^a	(70,6 ± 4,8) ^b
‘Princesa’	(3,52 ± 0,03) ^b	(14,2 ± 0,7) ^a	(66,1 ± 3,0) ^{a,b}
‘Red Delicious’	(4,08 ± 0,08) ^d	(13,8 ± 0,5) ^a	(52,1 ± 16,4) ^a

Promedio ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre variedades.

Los resultados de pH, sólidos solubles y firmeza se presentan en la Tabla 3.1. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el contenido de sólidos solubles de las manzanas, que promediaron 13,6°Brix. Se detectó diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el pH de las cinco variedades estudiadas, siendo ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ las variedades con menor y mayor pH, respectivamente. En cuanto a la firmeza de la pulpa, ‘Caricia’ y ‘Red Delicious’ son significativamente menos firmes ($p < 0,05$) que ‘Granny Smith’.

Piagentini et al. (2009) compararon las características de las mismas cinco variedades. Sus resultados coinciden con los aquí presentados en que ‘Granny Smith’ es la de menor pH y mayor firmeza, mientras que ‘Red Delicious’ presenta los valores más altos de pH y más bajos de firmeza.

Los resultados de polifenoles totales presentados en la Figura 3.2, muestran que ‘Red Delicious’ es la variedad con mayor contenido de polifenoles totales (98,61 mg ÁGE/100g), aunque el mismo no difiere significativamente del de ‘Princesa’ y ‘Caricia’. Por otro lado, ‘Eva’ presentó el menor nivel de polifenoles totales (30,27 mg ÁGE/100g). Piagentini et al. (2009) compararon el contenido de polifenoles totales de la pulpa de las cinco variedades estudiadas en la presente tesis y coincidieron en que ‘Red Delicious’ es la de mayor contenido en polifenoles, aunque el nivel más bajo lo obtuvieron para ‘Granny Smith’.

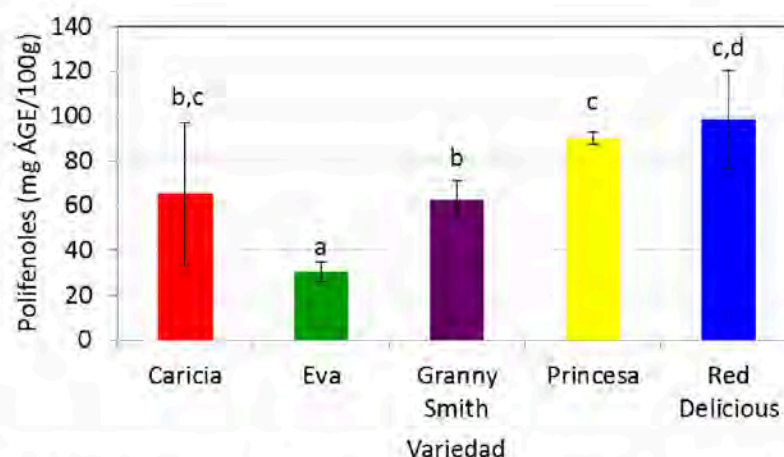


Figura 3.2. Polifenoles totales de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.

Las barras representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre variedades.

Por último, la Figura 3.3 representa la capacidad antioxidante de las cinco variedades. ‘Red Delicious’ es la variedad con mayor capacidad antioxidante (CAO) junto con ‘Princesa’, ‘Caricia’ y ‘Granny Smith’, mientras que ‘Eva’ presentó una CAO significativamente menor ($p < 0,05$). La capacidad antioxidante de las variedades estudiadas está entre 41,46 mg $\dot{A}Ae/100g$ (Eva) y 101,2 mg $\dot{A}Ae/100g$ (‘Red Delicious’). Piagentini et al. (2009) compararon la capacidad antioxidante de las mismas cinco variedades por el método del radical DPPH* y concluyeron que ‘Red Delicious’ presentaba la mayor capacidad antioxidante y no detectaron diferencias significativas entre las variedades ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’ y ‘Princesa’.

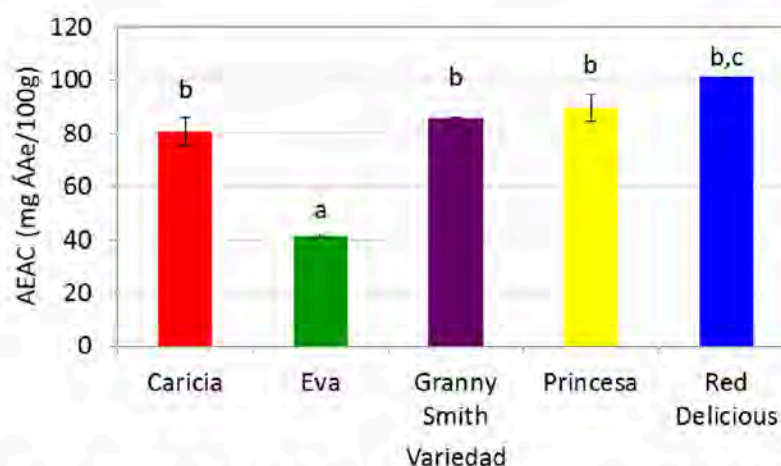


Figura 3.3. Capacidad antioxidante de las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Princesa’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’.

Las barras representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre variedades. AEAC= Capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.

3.2. APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS SUAVES A MANZANAS ENTERAS

La exposición de frutas y hortalizas a diferentes estreses abióticos controlados tiene un impacto significativo sobre la calidad y potencial saludable de frutas y hortalizas cortadas. Éstos afectan la biosíntesis de los tres principales grupos de metabolitos secundarios: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Cisneros-Zevallos, 2003). Los estreses abióticos se usan durante la postcosecha como herramientas tradicionales para extender la vida útil de frutas y hortalizas, considerando principalmente los cambios en color, textura y flavor. Se ha encontrado, que la aplicación de tratamientos térmicos suaves por inmersión en agua a distintas temperaturas puede ayudar a mantener la calidad en varias frutas reduciendo el pardeamiento, la pérdida de textura y la incidencia de alteraciones microbiológicas, pero los resultados dependen de la variedad y la temperatura del tratamiento (Allende et al., 2006; Martín-Diana et al., 2005; Kim et al., 1993; Abreu et al., 2003; Koukounaras et al., 2008).

Por lo tanto, se propone evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves sobre el color, firmeza y contenido de polifenoles entre otras características, de variedades de manzanas con distintos requerimientos de horas de frío durante su desarrollo.

3.2.1. Determinación de las curvas de calentamiento-enfriamiento y tiempo de semienfriamiento.

Se determinaron los perfiles de temperatura durante el calentamiento en baño de agua con agitación a 40, 45 y 50°C; y posterior enfriamiento en cámara refrigerada a 1,5°C de las cinco variedades de manzanas, determinándose los tiempos de semienfriamiento. En las Figuras 3.4 y 3.5 se presentan algunos de los perfiles de temperatura obtenidos para cada una de las cinco variedades estudiadas.

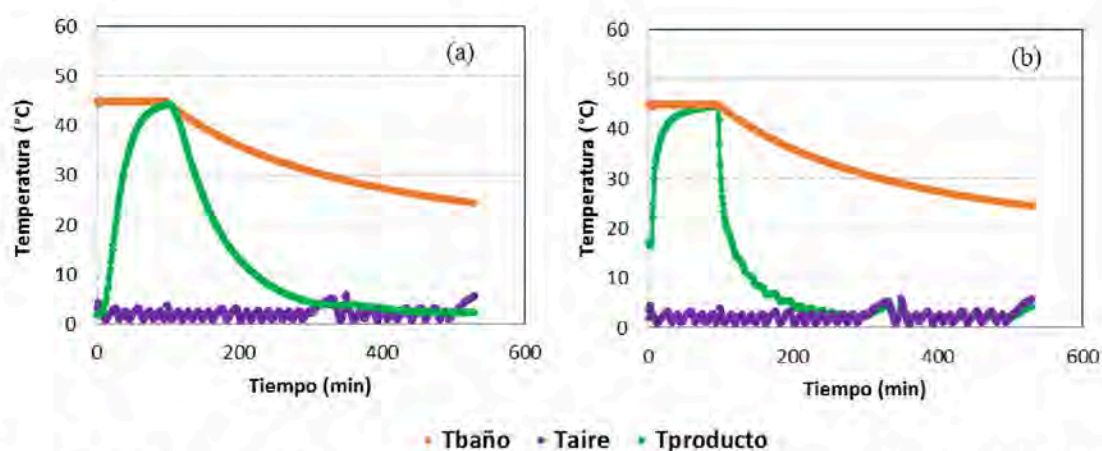


Figura 3.4. Curvas de calentamiento-enfriamiento manzanas ‘Granny Smith’ (a) y ‘Red Delicious’ (b).

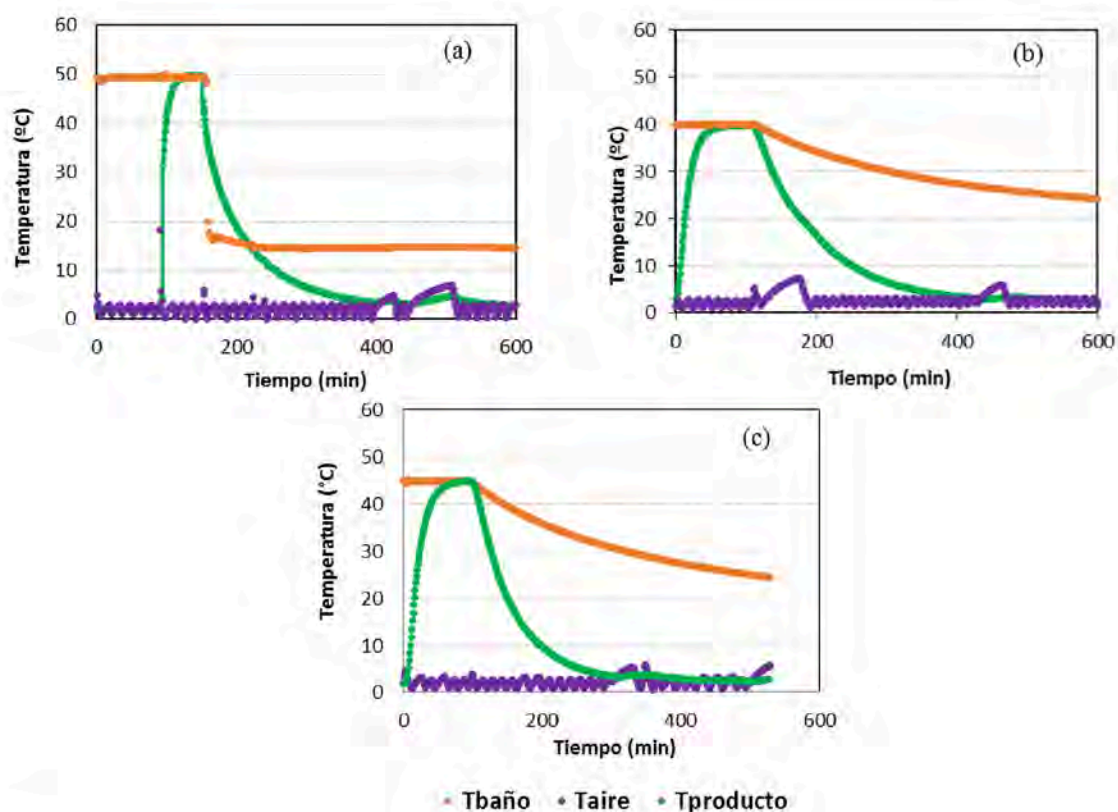


Figura 3.5. Curvas de calentamiento-enfriamiento manzanas 'Caricia' (a), 'Eva' (b) y 'Princesa' (c).

En la Tabla 3.2 se presentan los tiempos de semienfriamiento obtenidos para cada variedad. Como se puede observar, las variedades con alto requerimiento de frío durante su desarrollo ('Granny Smith' y 'Red Delicious') presentan los mayores tiempos de semienfriamiento, entre 72 y 75 minutos, para diámetros entre 8,3 y 8,5 centímetros. Por otra parte, los tiempos de semienfriamiento de las variedades Caricia, Eva y Princesa, con diámetros entre 5,8 y 6,8 cm, variaron entre 43 y 55 minutos. En las condiciones en que se realizaron los ensayos, el tiempo de semienfriamiento sólo depende de las dimensiones y propiedades térmicas del producto y es independiente de la temperatura inicial y del medio de enfriamiento. Como se observa en la Tabla 3.2, los mayores tiempos de semienfriamiento corresponden a aquellas manzanas con mayor diámetro ('Granny Smith' y 'Red Delicious').

Tabla 3.2. Tiempos de semienfriamiento correspondientes a las variedades de manzana ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’.

Variedad	D (cm)	t _{1/2} (min)
‘Caricia’	5,76 ± 0,51	47,65 ± 2,60
‘Eva’	6,75 ± 0,30	55,09 ± 18,66
‘Granny Smith’	8,36 ± 0,05	72,79 ± 3,72
‘Princesa’	6,70 ± 0,61	43,62 ± 10,99
‘Red Delicious’	8,50 ± 0,28	75,03 ± 2,30

Promedio ± desviación estándar.

D= diámetro promedio, t_{1/2}= tiempo de semienfriamiento.

3.2.2. Selección de las variedades para la aplicación de tratamientos térmicos

Para realizar una evaluación preliminar del efecto de los tratamientos térmicos suaves sobre la calidad de las 5 variedades de manzana, se aplicaron tratamientos térmicos a 45°C durante 55 minutos a las 5 variedades. Se evaluó su efecto sobre el color, firmeza y contenido de polifenoles de las manzanas luego de 24 h de realizado el tratamiento y se comparó con los resultados obtenidos en manzanas sin tratar (control) (sección 2.2.2 de Materiales y métodos).

En la Tabla 3.3 se presentan los resultados de color obtenidos. El tratamiento térmico aumentó la luminosidad (L*) de ‘Eva’ y mantuvo la de ‘Princesa’, mientras que ‘Caricia’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ se oscurecieron durante el tratamiento. Sin embargo, mientras que la reducción de L* en ‘Caricia’ fue del 4%, en ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ fue más pronunciada (8 y 10%, respectivamente).

Tabla 3.3. Parámetros de color L*, a* y b* de manzanas variedades ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Granny Smith’, ‘Princesa’ y ‘Red Delicious’, tratadas térmicamente a 45°C durante 55 minutos (tratadas) y sin tratar (control).

Variedad	L*		a*		b*	
	Control	Tratadas	Control	Tratadas	Control	Tratadas
‘Caricia’	(76,4±2,0) ^b	(73,2±3,9) ^a	(-0,1±1,2) ^a	(2,0±3,0) ^b	(26,7±3,7) ^a	(31,9±4,8) ^b
‘Eva’	(77,0±1,8) ^a	(78,8±0,9) ^b	(0,2±0,4) ^a	(0,3±0,4) ^a	(23,0±1,5) ^a	(23,9±1,9) ^b
‘Granny Smith’	(76,2±0,9) ^b	(70,4±4,0) ^a	(-0,5±0,9) ^a	(2,1±2,4) ^b	(19,3±2,2) ^a	(22,1±3,6) ^b
‘Princesa’	(76,3±1,0) ^a	(76,5±1,8) ^a	(0,2±0,6) ^a	(2,4±1,5) ^b	(28,0±1,8) ^a	(28,2±3,2) ^a
‘Red Delicious’	(78,7±0,7) ^b	(70,9±2,8) ^a	(1,3±0,5) ^a	(3,8±1,1) ^b	(20,8±0,9) ^a	(26,0±2,1) ^b

Promedio ± desviación estándar.

Letras distintas entre columnas, para un mismo parámetro, indican diferencia significativa ($p < 0,05$, t de Student).

Los resultados de color obtenidos coinciden con las observaciones visuales, donde se constató que las variedades ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’ no eran aptas para el tratamiento térmico por desarrollar un alto grado de pardeamiento (Figura 3.6).



Figura 3.6. Manzanas ‘Granny Smith’ (a) y ‘Red Delicious’ (b) luego de 24 h de realizado un tratamiento térmico a 45°C por 55 minutos.

En la Tabla 3.4 se presentan los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles totales de las cinco variedades luego del tratamiento térmico a 45°C durante 55 minutos, con respecto al control. ‘Red Delicious’ sufrió la mayor pérdida de firmeza y polifenoles totales (67,2 y 46,1%, respectivamente). ‘Granny Smith’ fue la segunda variedad en pérdida de polifenoles totales (12,6%), mientras que en todas las variedades con bajo requerimiento de horas de frío (‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’) se obtuvo un incremento del contenido de compuestos

polifenólicos. Las variedades ‘Caricia’ y ‘Princesa’ fueron las únicas en presentar un ligero aumento en la firmeza después del tratamiento térmico.

Tabla 3.4. Porcentaje de retención de firmeza y polifenoles totales de manzanas variedades ‘Caricia’, ‘Eva’, ‘Princesa’, ‘Granny Smith’ y ‘Red Delicious’, tratadas térmicamente a 45°C durante 55 minutos.

Variedad	% R Firmeza ¹	% R Polifenoles totales ²
‘Caricia’	107,4	105,2
‘Eva’	85,2	115,8
‘Granny Smith’	86,2	87,4
‘Princesa’	101,4	119,4
‘Red Delicious’	32,8	53,9

¹ %R Firmeza= Firmeza_{45°C-55min}/Firmeza_{Control}*100

² %R Polifenoles totales= Polifenoles_{45°C-55min}/Polifenoles_{Control}*100

Por lo tanto, la aplicación del tratamiento térmico a 45°C por 55 min a variedades de manzanas de climas fríos (Granny Smith y Red Delicious) no aumenta su firmeza ni reduce el desarrollo de pardeamiento, provocando pérdidas en el contenido de polifenoles. Sin embargo, el mismo tratamiento aplicado a manzanas de climas templados (Caricia, Eva y Princesa) arrojó mejoras en el color, firmeza y/o concentración de polifenoles totales. En ‘Caricia’ la luminosidad se redujo, pero tanto la firmeza como los polifenoles se incrementaron. En ‘Eva’ disminuyó la firmeza, pero aumentó el contenido de polifenoles y se mantuvo el parámetro L* de las muestras, mientras que en ‘Princesa’ se mantuvieron constantes la firmeza y la luminosidad de las muestras pero se obtuvo un aumento en los polifenoles.

Esto concuerda con lo observado por Kim et al. (1993) que concluyeron que la aplicación de tratamientos térmicos suaves por inmersión en agua a distintas temperaturas puede ayudar a mantener la calidad en varias frutas reduciendo el pardeamiento y la pérdida de textura, aunque los resultados dependen de la variedad y la temperatura del tratamiento.

3.2.3. Efecto de los tratamientos térmicos suaves sobre la calidad de manzanas de las variedades seleccionadas luego de 24h

Una vez seleccionadas las variedades de manzana a tratar (3.2.2), se realizaron diseños factoriales completos con 2 factores: tiempo y temperatura de calentamiento, en 3 niveles, según lo indicado en la sección 2.2.3 de Materiales y Métodos. Todos los análisis se llevaron a cabo después de 24h de realizado el tratamiento térmico sobre las manzanas tratadas térmicamente (TT) y manzanas sin tratar o control (C). Los resultados se expresaron como una

relación entre ambos. Las respuestas evaluadas luego de 24 h de realizado cada tratamiento térmico fueron:

- % de retención del pH: $\%RpH = (pH_{TT}/pH_C).100$
- % de retención de acidez: $\%RAc = (Acidez_{TT}/Acidez_C).100$
- % de retención de sólidos solubles: $\%RSS = (Sólidos\ solubles_{TT}/Sólidos\ solubles_C)*100$
- % de retención de firmeza: $\%RF = (Firmeza_{TT}/Firmeza_C).100$
- Cambio porcentual de L^* : $\partial L^* = [(L^*_{TT} - L^*_C)/L^*_C].100$
- Cambio porcentual de a^* : $\partial a^* = [(a^*_{TT} - a^*_C)/a^*_C].100$
- Cambio porcentual de b^* : $\partial b^* = [(b^*_{TT} - b^*_C)/b^*_C].100$
- Cambio porcentual de C_{ab}^* : $\partial C_{ab}^* = [(C_{ab}^*_{TT} - C_{ab}^*_C)/C_{ab}^*_C].100$
- Cambio porcentual de h_{ab} : $\partial h_{ab} = [(h_{abTT} - h_{abC})/h_{abC}].100$
- % de retención de polifenoles totales: $\%RPT = (Polifenoles_{TT}/Polifenoles_C)*100$

En primer lugar se comprobó la idoneidad del modelo elegido para cada respuesta y variedad de manzana, con los tests de diagnósticos basados en los residuos. Los resultados de los tests de diagnósticos (no mostrados) indican que se cumple adecuadamente con las suposiciones de homogeneidad de la varianza, independencia y normalidad de los errores. Por lo tanto, como no existen transgresiones severas podemos aplicar el ANOVA para los modelos propuestos para cada una de las respuestas evaluadas en cada variedad de manzana.

3.2.3.1. *Manzanas variedad 'Caricia'*

En la Tabla 3.5 se presenta el diseño factorial utilizado y los resultados experimentales correspondientes al porcentaje de retención del pH ($\%RpH$), acidez ($\%RAc$), sólidos solubles ($\%RSS$), firmeza ($\%RF$) y polifenoles ($\%RPT$) de manzanas variedad 'Caricia'.

En la Tabla 3.6 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles.

Tabla 3.5. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas ‘Caricia’.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
1	40	55	97,6	113,7	84,5	95,0	100,9
2	40	90	99,6	117,5	88,4	108,7	103,4
3	50	20	99,4	116,1	102,0	102,3	103,0
4	45	55	101,9	123,3	103,0	104,2	105,2
5	50	55	102,5	106,1	101,5	108,4	107,9
6	45	55	102,7	122,8	96,8	107,3	104,9
7	40	20	98,5	96,9	82,1	110,3	99,3
8	50	90	104,7	102,2	91,2	68,3	103,0
9	45	20	99,7	129,1	100,7	111,3	105,9
10	45	90	100,6	98,9	89,8	103,3	107,1
11	45	55	102,6	108,3	98,1	110,7	106,2

Tabla 3.6. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Caricia’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
X ₁ (T)	1	19,79**	2,11	261,39*	201,55*	17,95*
X ₂ (t)	1	8,85*	92,00	39,67	317,81*	4,59
X ₁ ²	1	2,02	123,30	70,52	158,50	18,99*
X ₁ .X ₂	1	4,40*	297,34	73,26	261,52*	4,21
X ₂ ²	1	1,63	21,01	22,47	13,72	1,18
Falta de ajuste	3	2,67	409,65	38,52	514,53	16,74
Error puro	2	0,20	144,65	21,31	21,60	0,97
Coef. Determinación (R ²)		82%	51%	89%	65%	74%

G.L.: grados de libertad; * p<0.05; ** p<0.01 *** p<0.001.

◆ Efecto sobre el pH

Las manzanas ‘Caricia’ sin tratar térmicamente (control) presentaron un pH de $3,50 \pm 0,13$.

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0704$) y logró explicar el 82% de la variación de los datos. En la Tabla 3.6 se puede observar que tanto la temperatura como el tiempo de calentamiento incidieron significativamente ($p = 0,0099$ y $0,0218$, respectivamente) en el porcentaje de retención del pH. A su vez, la interacción entre ambos factores también fue significativa. Tanto en el diagrama de Pareto (Figura 3.7) como en la gráfica de efectos principales (Figura 3.8) se observa que tanto el efecto de la temperatura como del tiempo es positivo, es decir que a medida que aumentan estos factores, aumenta el porcentaje de retención de pH.

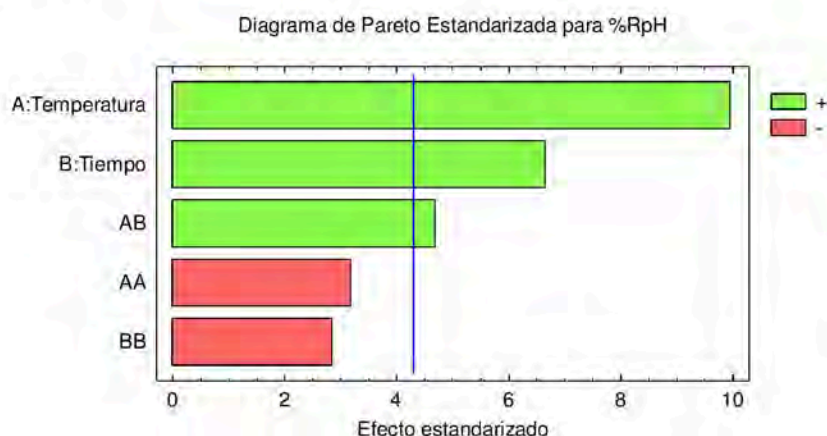


Figura 3.7. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención del pH (%RpH) de manzanas ‘Caricia’.

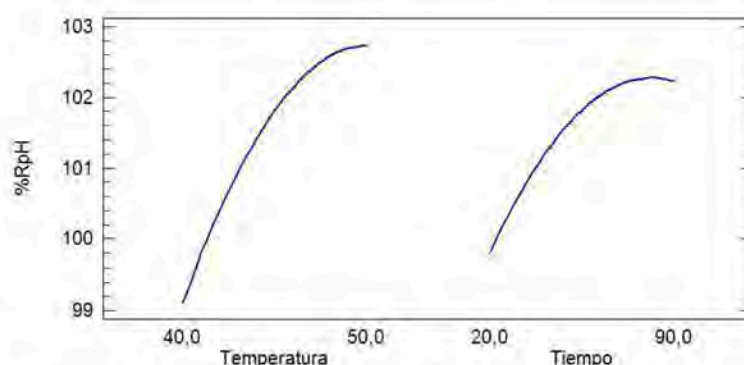


Figura 3.8. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas ‘Caricia’.

El efecto de la interacción entre la temperatura y el tiempo de calentamiento sobre la retención del pH se presenta gráficamente en la Figura 3.9. A bajas temperaturas, se obtienen los porcentajes de retención de pH más bajos (alrededor del 100%), independientemente del tiempo de calentamiento, es decir, el pH no se modifica por estos tratamientos. Por otro lado, a altas temperaturas de calentamiento, la retención de pH aumenta a medida que aumenta el tiempo de calentamiento, obteniéndose valores de pH superiores al control (%RpH>100).

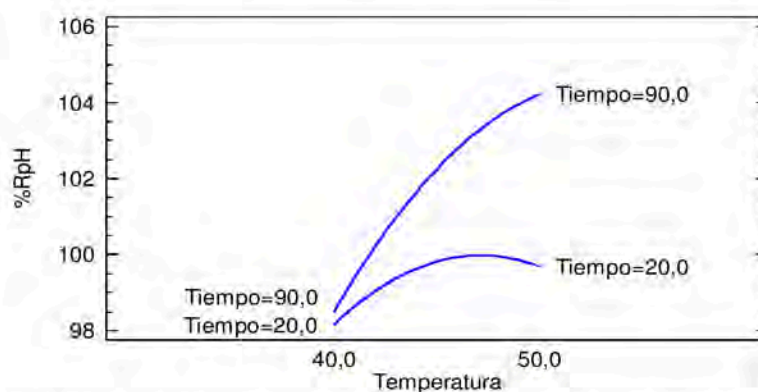


Figura 3.9. Gráfica de interacciones para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas 'Caricia'.

En la Ecuación 3.1 se presenta el modelo reducido obtenido para el porcentaje de retención de pH, aplicando el método "stepwise". El método "stepwise" tiene como objetivo buscar, de entre todas las posibles variables, aquellas que más y mejor expliquen a la variable independiente, sin que ninguna de ellas sea combinación lineal de las restantes (Rodríguez y Morar, 2002).

$$\%RpH = 97,47 + 0,034 * T - 0,235 * t + 0,006 * T * t \quad \text{Ecuación 3.1}$$

◆ Efecto sobre la acidez

La acidez promedio de las manzanas 'Caricia' control fue de $0,61 \pm 0,03$ g ácido málico/100g.

Para la acidez se obtuvo un modelo sin falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,3647$) que explicó el 51% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los factores tuvieron un efecto significativo ($p > 0,05$) sobre el porcentaje de retención de acidez de 'Caricia'.

◆ Efecto sobre los sólidos solubles

Las muestras control 'Caricia' presentaron, en promedio, un contenido de sólidos solubles de $13,42 \pm 0,65$ °Brix.

El modelo propuesto para los sólidos solubles no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,4833$) y logró explicar el 89% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a los resultados obtenidos, el porcentaje de retención de los sólidos solubles tiene una dependencia lineal positiva (Figura 3.10) con la temperatura de calentamiento.

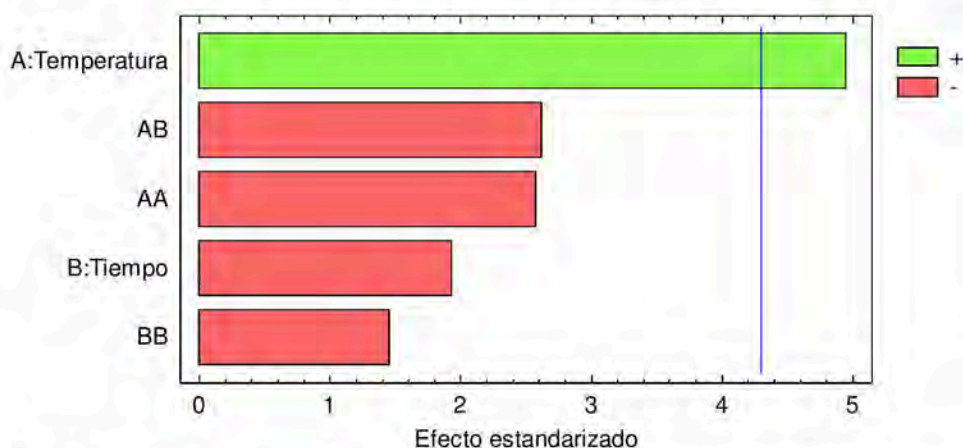


Figura 3.10. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de los sólidos solubles (%RSS) de manzanas 'Caricia'.

El modelo reducido para explicar en el porcentaje de retención de sólidos solubles se presenta en la Ecuación 3.2.

$$\%RSS = 34,97 + 1,32 * T$$

Ecuación 3.2

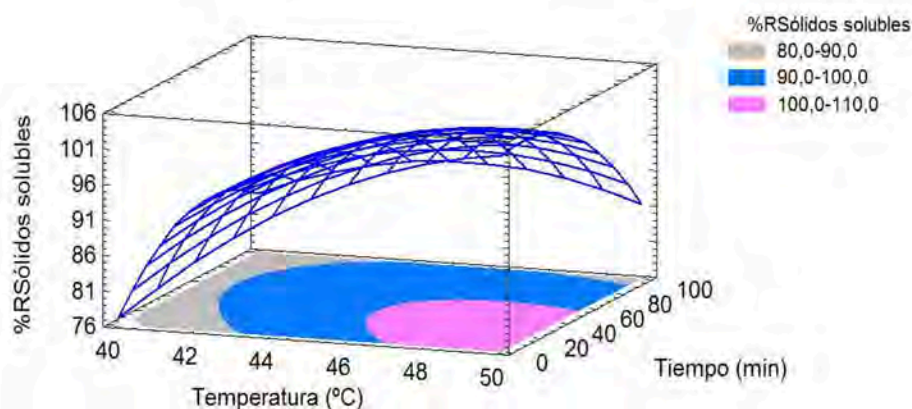


Figura 3.11. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de sólidos solubles de manzanas 'Caricia'.

En la Figura 3.11 se observa la superficie de respuesta estimada para el porcentaje de retención de los sólidos solubles en función de la temperatura y tiempo de calentamiento. De acuerdo a la gráfica y los resultados obtenidos (Tabla 3.6), los tratamientos térmicos a las menores temperaturas reducen el contenido inicial de sólidos solubles de la fruta, mientras que

en condiciones de alta temperatura y bajos tiempos, el tratamiento térmico genera un ligero aumento de los mismos.

◆ Efecto sobre la firmeza

Las manzanas ‘Caricia’ frescas cortadas sin tratamiento térmico (control) presentaron una firmeza promedio de $48,1 \pm 12,5$ N.

El modelo obtenido no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0598$), aunque sólo explicó el 65% de la variabilidad de los datos. Se encontró una dependencia lineal negativa con el tiempo y la temperatura de calentamiento, a su vez, la interacción de ambos factores también fue significativa (Figura 3.12).

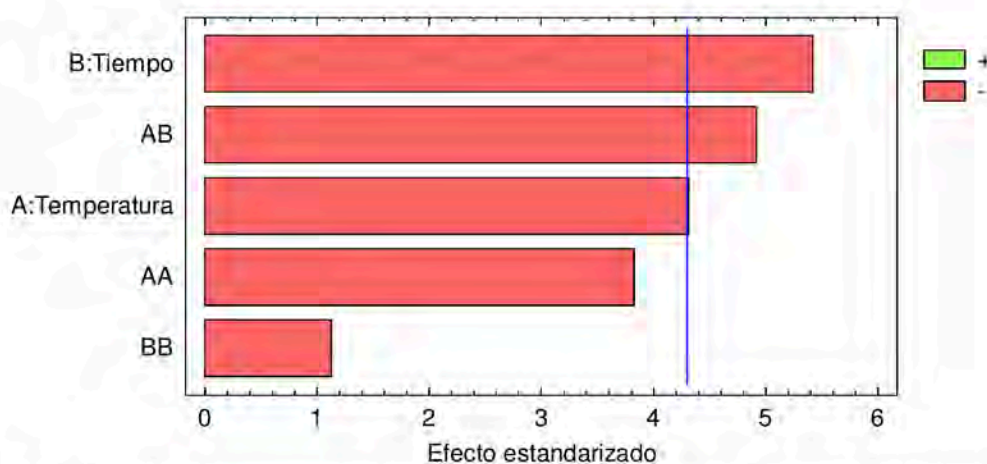


Figura 3.12. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’.

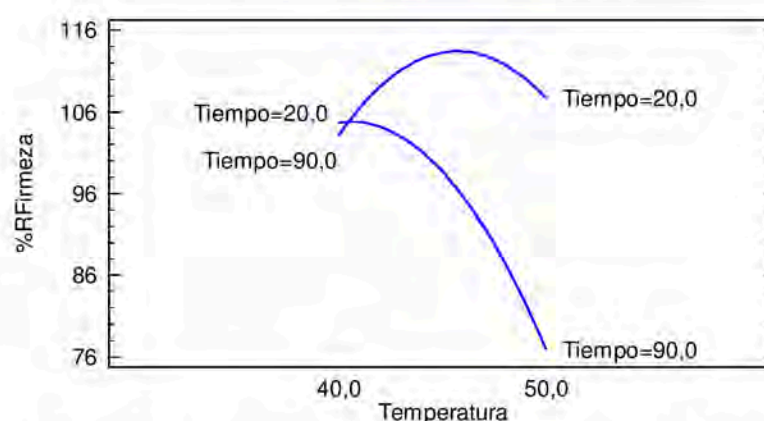


Figura 3.13. Gráfica de interacciones para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’.

Como se observa en la Figura 3.13, a bajas temperaturas la firmeza es independiente del tiempo de calentamiento, mientras que a altas temperaturas la firmeza disminuye conforme el tiempo de calentamiento aumenta.

En la Ecuación 3.3 se presenta el modelo reducido para el porcentaje de retención de firmeza de 'Caricia'.

$$\%RF = 51,94 + 1,38*T + 1,87*t - 0,05*T*t \quad \text{Ecuación 3.3}$$

♦ Efecto sobre los polifenoles

Las manzanas 'Caricia' control presentaron un contenido promedio de polifenoles totales de $65,28 \pm 31,85$ mg AGE/100g.

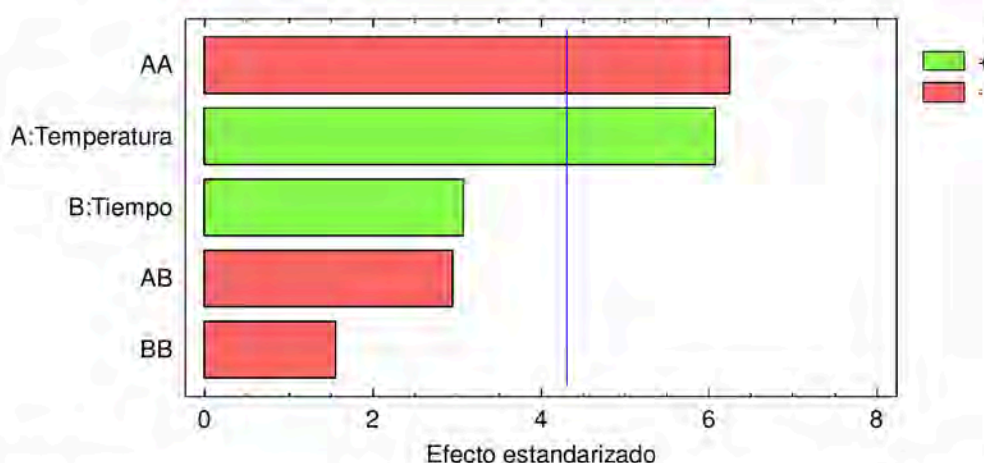


Figura 3.14. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de polifenoles (%RPT) de manzanas 'Caricia'.

El modelo propuesto para el porcentaje de retención de los polifenoles totales no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0811$) y explicó el 74% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a la Tabla 3.6, el único factor que incide significativamente en el porcentaje de retención de polifenoles es la temperatura. La dependencia de los polifenoles con la temperatura es lineal y cuadrática (Figura 3.14).

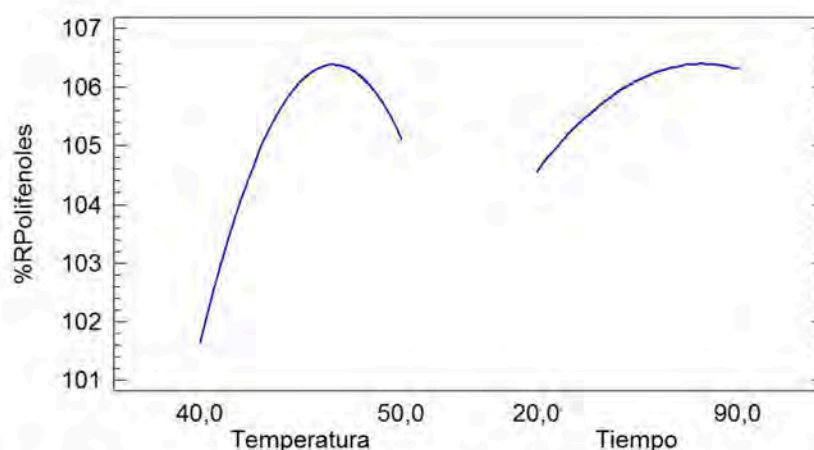


Figura 3.15. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de polifenoles (%RPT) de manzanas 'Caricia'.

Como puede verse en la Figura 3.15, la retención de polifenoles aumenta a medida que aumenta la temperatura, hasta un valor determinado, donde se obtiene el valor máximo de retención. A excepción del tratamiento realizado a 40°C por 20 min, el resto de los tratamientos produce un incremento en el contenido de polifenoles de hasta 8% con respecto al control.

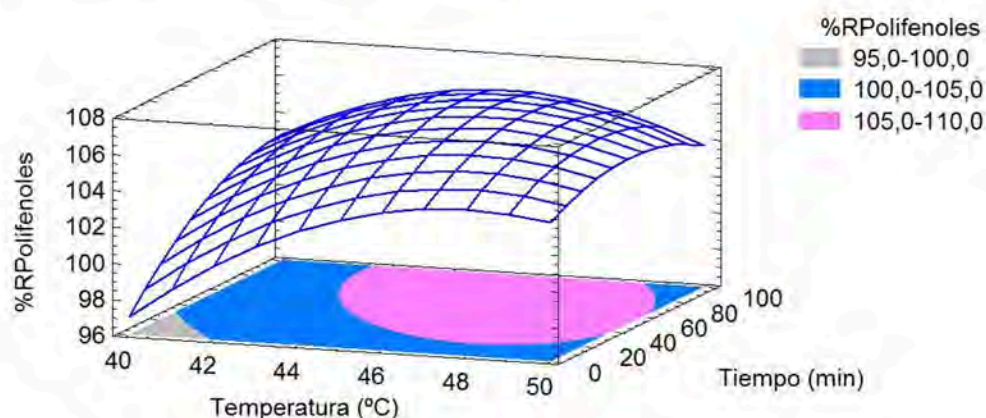


Figura 3.16. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de polifenoles de manzanas 'Caricia'.

La superficie de respuesta obtenida para la respuesta %RPT (Figura 3.16) muestra que el mayor incremento en el contenido de polifenoles totales se obtiene a temperaturas superiores a 43°C

La Ecuación 3.4 corresponde al modelo reducido de porcentaje de retención de polifenoles totales para manzanas 'Caricia'.

$$\%RPT = -146,20 + 10,86 * T - 0,12 * T^2 \quad \text{Ecuación 3.4}$$

♦ **Efecto sobre los cambios en los parámetros instrumentales de color.**

En la Tabla 3.7 se presentan los resultados correspondientes a los cambios en los parámetros instrumentales de color obtenidos para el diseño factorial.

Tabla 3.7. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Caricia'.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
1	40	55	-5,5	-2914,4	19,1	19,6	-5,5
2	40	90	-10,4	-5554,8	31,8	33,1	-9,6
3	50	20	-3,7	-1858,1	14,3	14,5	-3,8
4	45	55	-4,5	-3795,4	17,4	17,7	-4,6
5	50	55	2,0	2061,5	2,5	2,7	4,3
6	45	55	-4,2	-2209,8	19,8	19,9	-3,6
7	40	20	-1,4	516,6	3,4	-3,5	1,3
8	50	90	-13,7	-5344,1	8,9	11,4	-10,2
9	45	20	-1,7	-146,7	9,5	9,6	-0,2
10	45	90	-3,4	-2370,7	4,6	4,7	-4,2
11	45	55	-6,3	-3066,2	23,0	23,4	-5,8

El análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios porcentuales de color medidos instrumentalmente se presenta en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X ₁ (T)	1	0,68	1,32.10 ⁶	135,94	127,03	2,77
X ₂ (t)	1	71,35*	2,31.10 ⁷ *	55,14	78,84	75,67*
X ₁ ²	1	2,32	201758	0,29	0,042	0,043
X ₁ .X ₂	1	0,21	1,67.10 ⁶	284,75*	267,65*	4,71
X ₂ ²	1	7,97	766422	41,98	38,37	5,23
Falta de ajuste	3	96,19*	2,66.10 ⁷	300,52	349,05	94,92*
Error puro	2	2,60	1,26.10 ⁶	16,11	16,65	2,40
Coef. Determinación (R ²)		46%	49%	62%	58%	48%

G.L: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

*Efecto sobre ∂L^**

Las muestras control de la variedad ‘Caricia’ presentaron, en promedio, un L* de 76,45 ± 1,96.

El modelo propuesto presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0393$), por lo que no fue posible modelar el cambio en la luminosidad de las muestras en función de los parámetros del tratamiento térmico. Todas las muestras tratadas térmicamente, con excepción de una, presentaron un valor de L* menor que el control, por lo que los tratamientos aplicados no fueron eficientes en reducir el desarrollo de pardeamiento en la variedad ‘Caricia’ luego de 24h de tratadas. La muestra tratada a 50°C por 55 min fue la única muestra que presentó un valor de L* superior al control (2%). Del resto, las muestras que presentaron la menor diferencia de luminosidad con el control fueron aquellas tratadas a 40°C por 20 minutos (reducción del 1,4%) y a 45°C por 20 minutos (reducción del 1,7%). Por otro lado, el mayor oscurecimiento de la pulpa (la mayor reducción del parámetro L*, 13,7%) se obtuvo para las manzanas ‘Caricia’ tratadas a 50°C por 90 minutos. A pesar de que el modelo no pudo ajustarse, en la Figura 3.17 se observa que ∂L^* tiene una tendencia a disminuir con el tiempo de calentamiento, lo que se traduce en un oscurecimiento de la muestra.

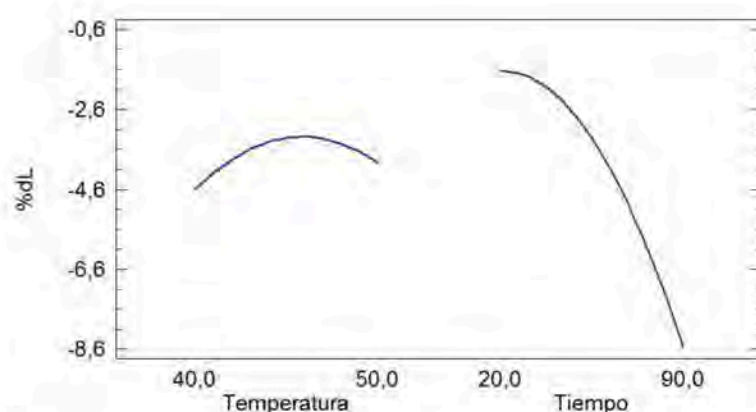


Figura 3.17. Gráfica de efectos principales para ∂L^* de manzanas 'Caricia'.

*Efecto sobre ∂a^**

El promedio del parámetro a^* para las manzanas 'Caricia' control fue de $-0,09 \pm 1,18$.

Fue posible ajustar el modelo para ∂a^* ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0670$), pero éste sólo explicó el 49% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a los resultados obtenidos, el único factor significativo ($p = 0,0262$) fue el tiempo de calentamiento, que tiene una relación lineal negativa con ∂a^* (Figura 3.18). El valor de a^* de las muestras control es negativo, lo que implica que se obtengan valores de ∂a^* ($[(a^*_{TT} - a^*_C)/a^*_C] * 100$) positivos cuando a^*_{TT} es menor que a^*_C y, por lo tanto, el tratamiento fue efectivo en evitar el pardeamiento de las muestras (50°C-55 min y 40°C-20 min). Sin embargo, para el resto de los tratamientos, los valores de $\partial a^* < 0$, es decir, $a^*_{TT} > a^*_C$, las muestras tratadas presentaron un tono rojizo, indicador de desarrollo de pardeamiento.

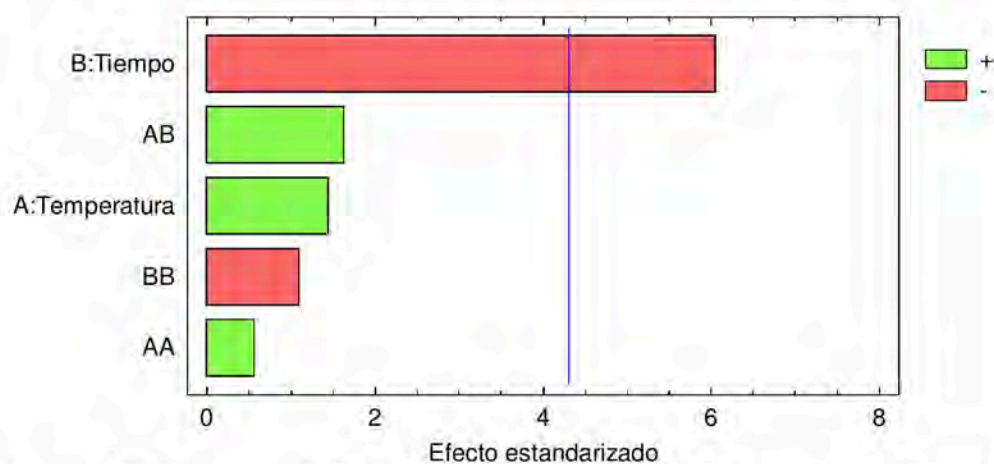


Figura 3.18. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂a^* de manzanas 'Caricia'.

El modelo reducido obtenido para explicar el cambio en el parámetro a^* se presenta en la Ecuación 3.5.

$$\partial a^* = 841,78 - 50,11 * t \quad \text{Ecuación 3.5.}$$

En la Figura 3.19 se presenta la superficie de respuesta estimada para los cambios porcentuales del parámetros instrumental de color a^* , en la variedad 'Caricia'.

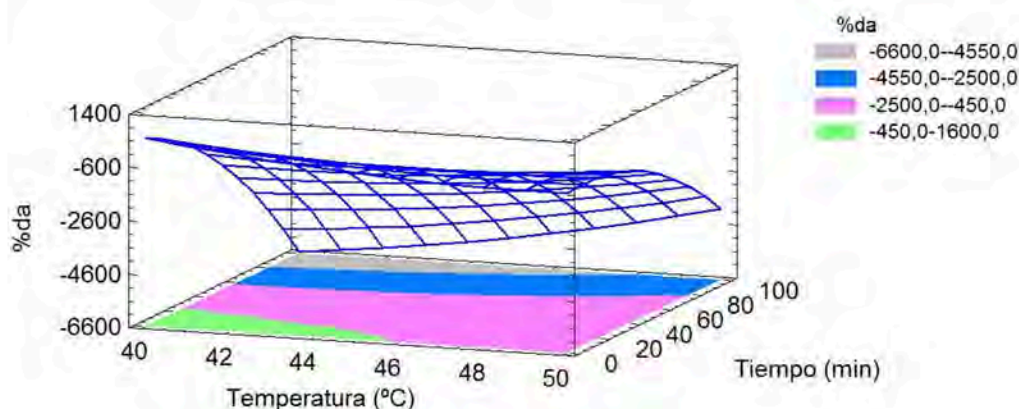


Figura 3.19. Superficie de respuesta obtenida para ∂a^* de manzanas 'Caricia' frescas cortadas.

Efecto sobre ∂b^ y ∂C_{ab}^**

Las muestras control 'Caricia' promediaron $26,74 \pm 3,60$ y $26,76 \pm 3,62$ en b^* y C_{ab}^* , respectivamente.

Ambos modelos pudieron ajustarse ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0753$ para ∂b^* y $0,0675$ para ∂C_{ab}^*) y explicaron el 62% de la variabilidad de los datos de ∂b^* y el 58% de la variabilidad de los datos de ∂C_{ab}^* .

El único término significativo ($p < 0,05$) en ambos casos, fue la interacción de ambos factores. En las Figuras 3.20 se puede observar que, para ambos parámetros, a 40°C las diferencias con respecto al control son mayores cuanto mayor es el tiempo de calentamiento, mientras que a 50°C , si bien el efecto es menos pronunciado, las diferencias de estos parámetros de color son ligeramente superiores para los menores tiempos de calentamiento.

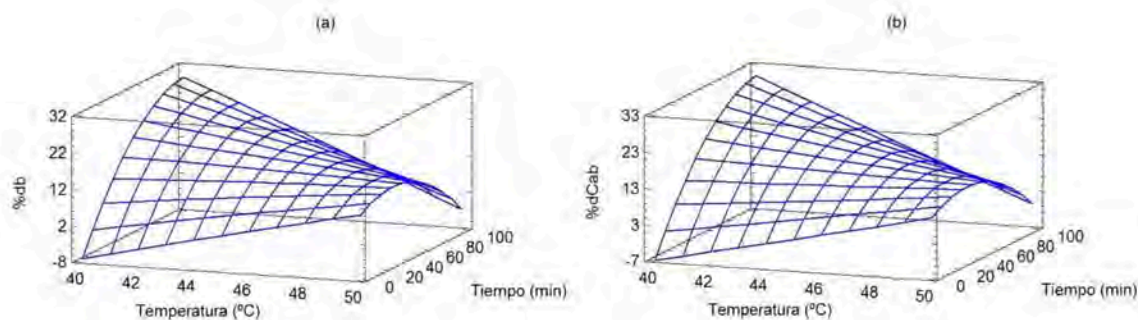


Figura 3.20. Gráfica de superficie y contorno para ∂b^* (a) y ∂C_{ab}^* (b) de manzanas ‘Caricia’.

Los modelos reducidos obtenidos para ∂b^* y ∂C_{ab}^* se presentan en las Ecuaciones 3.6 y 3.7, respectivamente.

$$\partial b^* = -67,27 + 1,70 * T + 2,26 * t - 0,048 * T * t \quad \text{Ecuación 3.6.}$$

$$\partial C_{ab}^* = -65,44 + 1,65 * T + 2,21 * t - 0,047 * T * t \quad \text{Ecuación 3.7.}$$

Efecto sobre ∂h_{ab}

El ∂h_{ab} promedio obtenido para las muestras ‘Caricia’ control fue de $90,39 \pm 2,22$ (tono amarillo).

No fue posible ajustar un modelo para ∂h_{ab} , ya que el propuesto presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0368$). En la Tabla 3.7 se puede observar que solo dos tratamientos presentaron $\partial h_{ab} > 0$, es decir, dichas muestras tratadas fueron las únicas que no presentaron desarrollo de pardeamiento. Dichos tratamientos, que generan los mayores valores de h_{ab} , fueron 40°C -20 min y 50°C -55 min.

3.2.3.2. Manzanas variedad ‘Eva’

En la Tabla 3.9 se presentan los resultados experimentales para el diseño factorial utilizado correspondiente al porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Eva’.

Tabla 3.9. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas 'Eva'.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
1	40	20	98,0	94,3	104,1	99,1	140,9
2	50	20	101,4	78,7	98,1	93,9	149,4
3	40	90	99,5	81,8	93,3	74,5	116,0
4	40	55	101,2	92,6	95,4	85,8	120,1
5	50	55	103,8	79,9	96,0	86,9	169,6
6	45	55	103,6	88,1	98,8	107,9	112,4
7	50	90	103,9	83,2	97,4	76,4	123,2
8	45	55	103,3	83,9	96,5	96,0	118,7
9	45	90	102,5	88,6	97,4	76,2	112,2
10	45	55	101,9	86,8	93,8	103,5	142,0
11	45	20	100,7	88,7	102,9	106,9	117,5

En la Tabla 3.10 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles, para la variedad 'Eva'.

Tabla 3.10. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Eva’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
X ₁ (T)	1	18,19*	120,53*	0,28	0,79	707,56
X ₂ (t)	1	5,67	10,96	47,82	886,42*	528,15
X ₁ ²	1	1,23	12,36	4,41	282,80	910,29
X ₁ .X ₂	1	0,22	71,28	25,23	12,40	0,41
X ₂ ²	1	6,37	0,10	24,67	73,03	312,39
Falta de ajuste	3	0,76	26,20	1,83	104,69	721,42
Error puro	2	1,63	9,15	12,64	72,52	487,40
Coef. Determinación (R ²)		93%	86%	87%	89%	65%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

◆ Efecto sobre el pH

La muestra control de ‘Eva’ presentó un pH promedio de $3,81 \pm 0,07$.

El modelo no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,8216$) y logró explicar el 93% de la variación de los datos. En la Tabla 3.10 se puede observar que el único factor que incide significativamente ($p = 0,0420$) en el porcentaje de retención del pH, es la temperatura.

En la Figura 3.21 se observa que el pH de las muestras tratadas tiene una dependencia lineal positiva con la temperatura de calentamiento.

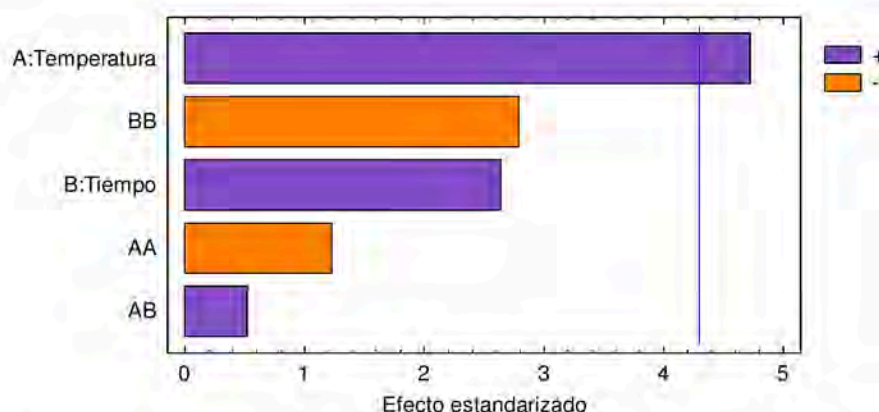


Figura 3.21. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de pH (%RpH) de manzanas ‘Eva’.

En la Ecuación 3.8 se presenta el modelo reducido para el porcentaje de retención de pH de 'Eva'.

$$\%RpH = 86,16 + 0,35 * T \quad \text{Ecuación 3.8}$$

◆ Efecto sobre la acidez

Las manzanas 'Eva' control presentaron una acidez promedio de $0,57 \pm 0,04$.

En cuanto a la acidez, se obtuvo un modelo sin falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,3620$) que explicó el 86% de la variabilidad de los datos. Al igual que en el caso del pH, el único factor significativo ($p = 0,0359$) fue la temperatura, pero en este caso y correlacionando con lo que sucede con el pH, el porcentaje de retención de acidez presentó una dependencia lineal negativa con la temperatura (Figura 3.22).

En la Ecuación 3.9 se presenta el modelo de porcentaje de retención de acidez reducido.

$$\%RAc = 126,39 - 0,90 * T \quad \text{Ecuación 3.9}$$

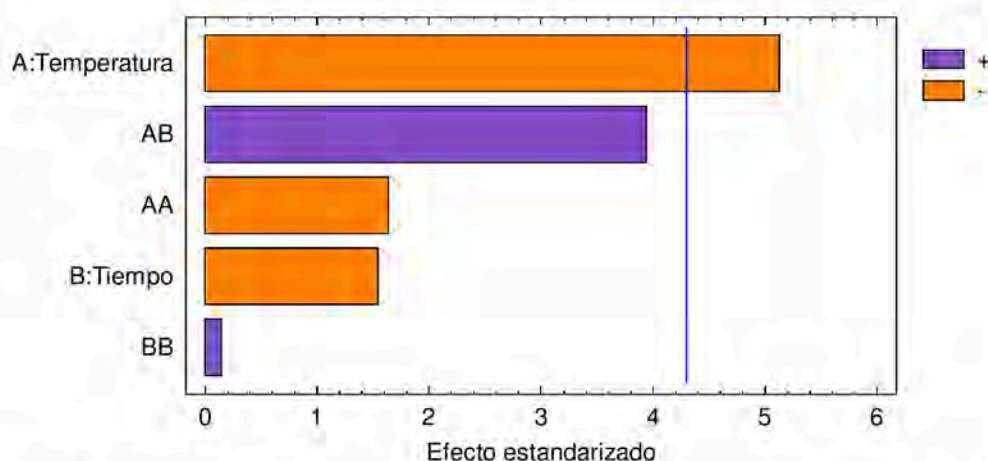


Figura 3.22. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de retención de acidez (%RAc) de manzanas 'Eva'.

◆ Efecto sobre los sólidos solubles

El modelo propuesto para los sólidos solubles no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,9550$) y logró explicar el 87% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a los resultados obtenidos, el porcentaje de retención de los sólidos solubles no depende significativamente ($p > 0,05$) de ninguno de los factores estudiados.

Las manzanas 'Eva' control promediaron un contenido de sólidos solubles de $13,8 \pm 0,3$ °Brix y al tratar térmicamente las manzanas, entre 40 y 50°C durante 20 a 90 minutos, el contenido de sólidos solubles se mantuvo prácticamente constante (aumentó un 0,6%).

◆ Efecto sobre la firmeza

Las manzanas ‘Eva’ control promediaron una firmeza de $53,92 \pm 3,16$ N.

El modelo obtenido para explicar la variación del porcentaje de firmeza con temperatura y tiempo de calentamiento no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5459$) y explicó el 89% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a los resultados del ANOVA presentados en la Tabla 3.10, el único factor que afectó significativamente la firmeza de las muestras fue el tiempo ($p = 0,0386$). En la gráfica de efectos principales (Figura 3.23) se observa claramente que la firmeza disminuye con el tiempo de calentamiento.

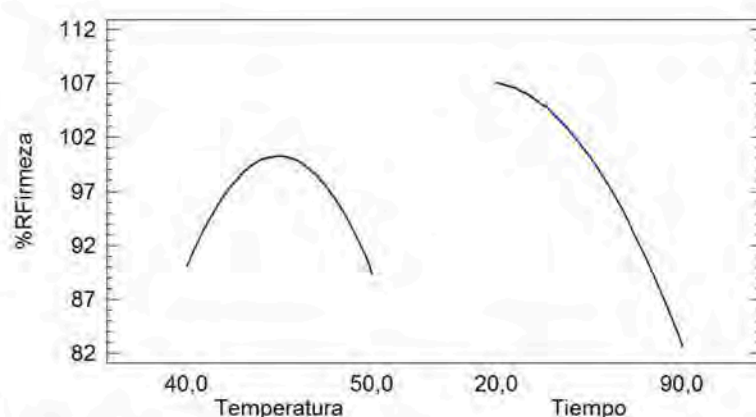


Figura 3.23. Gráfica de efectos principales para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Eva’.

La Ecuación 3.10 presenta el modelo de porcentaje de retención de firmeza reducido.

$$\%RF = 110,664 - 0,347276 * t \quad \text{Ecuación 3.10}$$

◆ Efecto sobre los polifenoles

Las muestras ‘Eva’ control promediaron un contenido de polifenoles de $30,27 \pm 4,58$ mg AGE/100g.

El modelo propuesto para el porcentaje de retención de polifenoles totales no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5390$) y explicó el 65% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los factores influye significativamente en el contenido de compuestos polifenólicos totales de ‘Eva’ (Tabla 3.10).

Sin embargo, el tratamiento térmico generó un incremento promedio del 30% en el contenido de polifenoles de las manzanas ‘Eva’.

◆ Efecto sobre los cambios en los parámetros instrumentales de color.

En la Tabla 3.11 se presentan los resultados correspondientes a los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color obtenidos para el diseño factorial.

Tabla 3.11. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Eva'.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	δL^*	δa^*	δb^*	δC_{ab}^*	δh_{ab}
1	40	20	2,8	-171,2	-4,0	-4,0	0,8
2	50	20	2,2	257,0	5,6	5,6	-1,0
3	40	90	1,0	156,7	4,4	4,4	-0,6
4	40	55	1,9	37,3	3,8	3,8	-0,1
5	50	55	1,8	-107,1	2,9	2,9	0,5
6	45	55	1,9	-57,9	-1,6	-1,6	0,3
7	50	90	1,6	49,8	4,2	4,2	-0,2
8	45	55	2,4	-243,4	5,1	5,1	-0,9
9	45	90	1,4	102,5	1,6	1,6	-0,4
10	45	55	2,8	139,9	10,0	10,0	-0,5
11	45	20	2,4	4,6	0,8	0,7	0,0

El análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios de color medidos instrumentalmente se presenta en la Tabla 3.12.

Tabla 3.12. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Eva’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X ₁ (T)	1	0,0022	5216,17	11,89	11,92	0,082
X ₂ (t)	1	1,87	7968,83	10,26	10,29	0,15
X ₁ ²	1	0,15	8414,61	0,10	0,096	0,17
X ₁ .X ₂	1	0,35	71617,10	24,06	24,15	1,24
X ₂ ²	1	0,13	2403,69	10,11	10,07	0,074
Falta de ajuste	3	0,16	48233,70	17,01	17,07	0,79
Error puro	2	0,46	46871,30	68,17	68,24	0,79
Coef. Determinación (R ²)		81%	50%	40%	40%	51%

G.L: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

Ninguno de los modelos obtenidos presentó falta de ajuste, aunque el modelo para ∂L^* fue el que logró explicar en mayor medida la variabilidad de los datos (81%). No se obtuvieron términos significativos en ninguno de los modelos propuestos para el cambio en los parámetros instrumentales de color.

En la Tabla 3.13 se presentan los promedios obtenidos para cada parámetro de color en las manzanas ‘Eva’ control y tratadas térmicamente, así como el porcentaje de cambio promedio (% ∂) obtenido para cada parámetro, calculado como la diferencia entre los parámetros promedios obtenidos para las muestras tratadas y sin tratar, dividido por el promedio obtenido para las muestras sin tratar y multiplicado por 100. El tratamiento térmico generó un incremento en los parámetros L*, a*, b* y C_{ab}* (aunque sólo fue significativo en el caso de los parámetros L* y C_{ab}*), lo que implica un aumento de luminosidad (más claridad), un ligero incremento en los tonos rojo y amarillo y por lo tanto un pequeño aumento en la cromaticidad. Por otro lado, se obtuvo una reducción (no significativa) del ángulo de tono de las manzanas, hacia los tonos rojizos (h_{ab}= 90° tono amarillo; h_{ab}= 0°, tono rojo).

Tabla 3.13. Parámetros instrumentales de color obtenidos para las manzanas ‘Eva’ frescas cortadas tratadas térmicamente.

Parámetro	Control	Tratadas térmicamente	Porcentaje de cambio (% δ)
L*	(76,96 \pm 1,77) ^a	(78,52 \pm 0,44) ^b	2,03
a*	(0,15 \pm 0,35) ^a	(0,25 \pm 0,21) ^a	59,55
b*	(23,03 \pm 1,53) ^a	(23,71 \pm 0,87) ^a	2,98
C _{ab} *	(23,03 \pm 1,53) ^a	(23,72 \pm 0,87) ^b	2,98
h _{ab} *	(89,62 \pm 0,88) ^a	(88,44 \pm 0,51) ^a	-0,19

Promedio \pm desviación estándar. Letras distintas entre columnas indican diferencia significativa entre las muestras control y tratadas térmicamente (t de Student, $p < 0,05$).

3.2.3.3. Manzanas variedad ‘Princesa’

En la Tabla 3.14 se presenta el diseño factorial utilizado y los resultados experimentales correspondientes al porcentaje de retención del pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Princesa’.

En la Tabla 3.15 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles.

◆ Efecto sobre el pH

El modelo no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,6485$) y logró explicar el 59% de la variación de los datos. Ninguno de los factores estudiados incide significativamente en el porcentaje de retención del pH.

Las manzanas variedad ‘Princesa’ tratadas térmicamente promediaron un pH de $4,10 \pm 0,11$, un 16% más alto que las manzanas control ($3,52 \pm 0,03$).

◆ Efecto sobre la acidez

La acidez promedio de las manzanas ‘Princesa’ control fue de $0,22 \pm 0,02$ g ácido málico/100g.

El modelo propuesto no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,4796$) y explicó sólo el 32% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los factores estudiados afectó significativamente la acidez de las manzanas ‘Princesa’ ($p > 0,05$).

Las manzanas ‘Princesa’ tratadas presentaron, en promedio, una acidez un 1% menor que las muestras control.

Tabla 3.14. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas ‘Princesa’.

N° ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
1	50	90	106,5	100,7	104,2	77,7	114,9
2	40	20	103,1	100,2	98,7	98,7	99,5
3	45	55	107,0	97,8	97,1	92,5	108,8
4	45	55	107,4	92,7	97,6	93,3	115,7
5	40	90	102,6	99,5	96,4	99,7	124,6
6	45	90	106,2	100,3	106,1	97,3	120,1
7	45	20	106,7	98,0	105,6	120,6	103,4
8	40	55	99,7	105,7	99,7	90,6	106,5
9	50	20	101,1	100,2	96,5	91,2	110,8
10	50	55	106,8	95,0	101,0	102,0	118,0
11	45	55	102,4	99,7	108,2	118,4	118,3

♦ Efecto sobre los sólidos solubles

El modelo propuesto para los sólidos solubles no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}}=0,8709$) y sólo explicó el 43% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a los resultados obtenidos, el porcentaje de retención de los sólidos solubles no depende significativamente de los factores estudiados.

Las muestras control presentaron un contenido de sólidos solubles promedio de $14,2 \pm 0,7$ °Brix y el tratamiento térmico generó un aumento de tan solo un 1% (las muestras tratadas térmicamente promediaron $14,3 \pm 0,2$ °Brix).

♦ Efecto sobre la firmeza

El modelo obtenido para explicar la variación del porcentaje de firmeza con temperatura y tiempo de calentamiento no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}}=0,6592$), pero sólo logró explicar el 44% de la variabilidad de los datos. Ni el tiempo ni la temperatura de calentamiento tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de retención de la firmeza (Tabla 3.15).

El tratamiento térmico generó en ‘Princesa’ una reducción promedio en la firmeza de tan solo un 1,7% (las muestras control promediaron $66,13 \pm 3,00$ N, mientras que las tratadas promediaron $65,05 \pm 4,17$ N).

Tabla 3.15. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Princesa’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		%RpH	%RAc	%RSS	%RF	%RPT
X ₁ (T)	1	13,65	15,10	7,78	54,53	27,82
X ₂ (t)	1	3,38	0,75	5,72	213,65	350,17
X ₁ ²	1	19,11	12,91	39,14	332,44	0,82
X ₁ .X ₂	1	8,47	0,36	25,21	53,13	109,91
X ₂ ²	1	0,54	2,70	6,31	4,09	3,10
Falta de ajuste	3	15,45	49,20	27,12	415,84	44,47
Error puro	2	15,57	26,85	79,05	436,54	48,36
Coef. Determinación (R ²)		59%	32%	43%	44%	84%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

◆ Efecto sobre los polifenoles

El modelo propuesto para el porcentaje de retención de los polifenoles totales no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,6685$) y explicó el 84% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los factores influyó significativamente en el contenido de compuestos polifenólicos totales de ‘Princesa’ (Tabla 3.15).

Las muestras tratadas térmicamente promediaron ($101,52 \pm 12,31$ mg AGE/100g) un 13% de polifenoles totales más que las control ($90,02 \pm 19,00$ mg AGE/100g).

◆ Efecto sobre los cambios en los parámetros instrumentales de color.

En la Tabla 3.16 se presentan los resultados correspondientes a los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color obtenidos para el diseño factorial.

El análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios de color medidos instrumentalmente se presenta en la Tabla 3.17.

Tabla 3.16. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
1	50	90	-5,7	2785,2	5,9	7,3	-9,5
2	40	20	-0,9	394,7	-2,8	-2,7	-1,4
3	45	55	0,3	1411,0	0,7	1,2	-4,9
4	45	55	-0,9	1686,5	6,4	6,9	-5,8
5	40	90	-8,0	1919,8	16,3	16,9	-5,9
6	45	90	-5,8	2314,5	19,9	20,7	-7,0
7	45	20	-0,7	777,4	0,3	0,5	-2,9
8	40	55	-1,1	742,0	3,1	3,2	0,0
9	50	20	0,0	817,4	-4,6	-4,4	-3,1
10	50	55	-3,5	1727,4	12,0	12,5	-5,5
11	45	55	0,8	-423,3	-1,8	-1,7	1,5

Efecto sobre ∂L^*

Las manzanas ‘Princesa’ control promediaron un L^* de $76,29 \pm 0,96$.

El modelo obtenido no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,22$) y explicó el 89% de la variabilidad de los datos.

El único factor significativo fue el tiempo ($p = 0,0138$), se encontró que el porcentaje de retención de L^* disminuye con el tiempo (Figura 3.24), lo que significa que las manzanas se oscurecen al prolongar el tiempo de calentamiento.

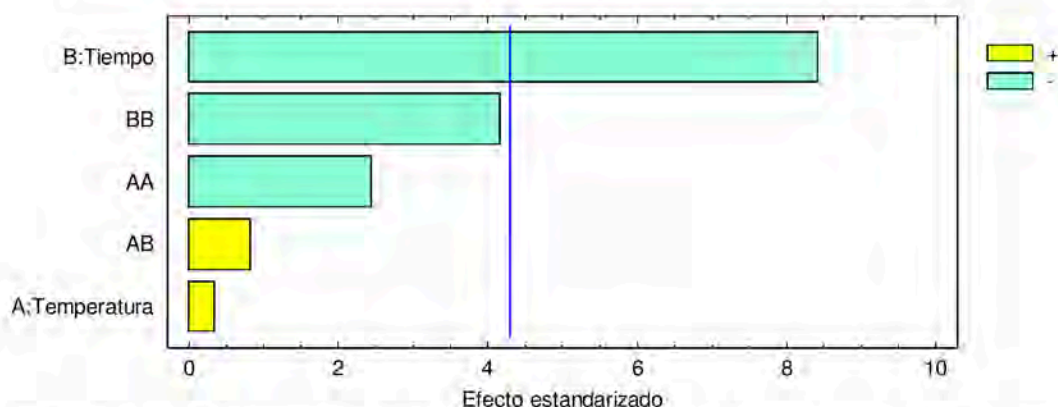


Figura 3.24. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂L^* de manzanas 'Princesa'.

El modelo reducido obtenido para ∂L^* se presenta en la Ecuación 3.11.

$$\% \partial L = 2,39 - 0,086 * t \quad \text{Ecuación 3.11}$$

Tabla 3.17. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Princesa'.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X_1 (T)	1	0,089	861420	1,77	0,67	19,14
X_2 (t)	1	54,00*	4,22.10 ⁶	403,43*	442,65*	37,20
X_1^2	1	4,57	41196,00	1,09	0,91	0,047
$X_1.X_2$	1	0,51	48998,00	18,42	15,75	0,87
X_2^2	1	13,24	487678,0	9,55	11,50	10,99
Falta de ajuste	3	8,45	159651	175,57	173,72	3,67
Error puro	2	1,52	2,63.10 ⁶	35,32	38,94	31,93
Coef. Determinación (R^2)		89%	67%	67%	69%	66%

G.L.: grados de libertad; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$.

Efecto sobre ∂a^*

El modelo completo para ∂a^* no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,9863$) y logró explicar el 67% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los términos del modelo polinomial fue significativo ($p > 0,05$).

Las muestras 'Princesa' control promediaron $0,16 \pm 0,63$ en el parámetro a^* , mientras que las muestras tratadas promediaron $2,22 \pm 1,24$. Este incremento en el a^* de las manzanas implica un aumento en el tono rojo de la pulpa.

Efecto sobre ∂b^* y ∂C_{ab}^*

Los modelos propuestos para ∂b^* y ∂C_{ab}^* no presentaron falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,2404$ para ∂b^* y $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,2617$ para ∂C_{ab}^*) y explicaron el 67% y 69% de la variabilidad de los datos, respectivamente. En ambos casos, el único término significativo fue el correspondiente al término lineal del tiempo de calentamiento. En las Ecuaciones 3.12 y 3.13 se presentan los modelos reducidos obtenidos para ambos parámetros de color.

$$\partial b^* = -7,82 + 0,23 * t \quad \text{Ecuación 3.12}$$

$$\partial C_{ab}^* = -8,01 + 0,25 * t \quad \text{Ecuación 3.13}$$

En la Figura 3.25 se observa que a medida que aumenta el tiempo de calentamiento, aumenta también el porcentaje de cambio de b^* . El mismo comportamiento se obtuvo para el parámetro C_{ab}^* .

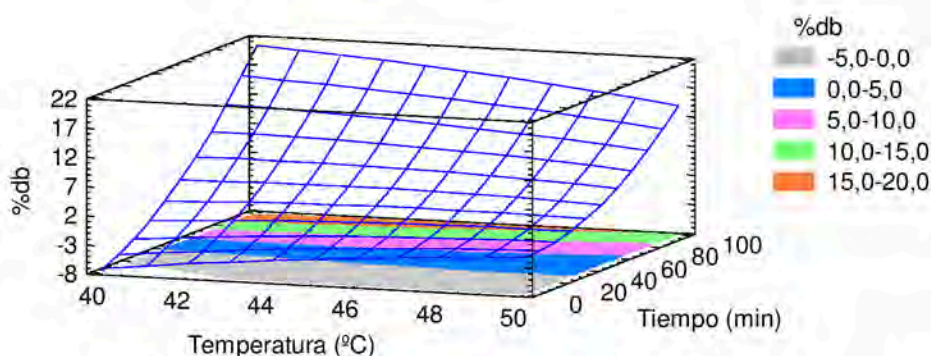


Figura 3.25. Superficie de respuesta para ∂b^* de manzanas ‘Princesa’.

Efecto sobre ∂h_{ab}

El modelo no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,9669$) y explicó 66% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los términos del modelo fue significativo ($p > 0,05$).

Las manzanas ‘Princesa’ control promediaron $89,73 \pm 1,32$ en el parámetro h_{ab} , mientras que aquellas tratadas térmicamente promediaron $85,88 \pm 2,67$, por lo tanto el tratamiento térmico generó una reducción del ángulo de tono hacia tono rojizos ($h_{ab} = 0$, tono rojo).

3.2.3.4. Análisis de los resultados obtenidos después de 24h de realizados los tratamientos térmicos

Para la variedad ‘Caricia’ lograron modelarse los porcentajes de retención de pH, sólidos solubles, firmeza y polifenoles, además de porcentaje de ∂a^* , ∂b^* y ∂C_{ab}^* . Para la variedad ‘Eva’ se obtuvieron modelos para los porcentajes de retención de pH, acidez y firmeza.

Por último, para la variedad 'Princesa' se obtuvieron modelos para los porcentajes de ∂L^* , ∂b^* y ∂C_{ab}^* .

Los efectos del tratamiento térmico dependieron de la variedad. En la misma línea, Kim et al. (1993) aplicaron tratamientos térmicos de 40°C por 60 a 240 minutos, 45°C por 30 a 120 minutos y 50°C por 30 a 120 minutos y evaluaron la tasa respiratoria, firmeza, color, sólidos solubles y acidez de 11 variedades de manzana y reportaron que las respuestas al tratamiento térmico fueron distinta entre variedades.

En cuanto a la firmeza de las manzanas, para 'Caricia' se encontró que a bajas temperaturas la firmeza es independiente del tiempo de calentamiento, mientras que a altas temperaturas la firmeza disminuye conforme el tiempo de calentamiento aumenta. Para la mayoría de los tratamientos realizados a bajas temperaturas (40-45°C) se produce un incremento de firmeza de hasta 11%, pero para los tratamientos realizados a temperaturas superiores (50°C) y a tiempos superiores a 60 min se produce una reducción de la firmeza de hasta 25-30%. Para 'Eva' la temperatura no influyó significativamente sobre la retención de firmeza pero ésta descendió con el aumento del tiempo de calentamiento. Los tratamientos realizados a los menores tiempos (20-50 min) producen incrementos del 3-8% en la firmeza de Eva, mientras que los realizados a tiempos superiores (60-90 min) producen reducciones del 6-25%. En el caso de 'Princesa', ningún factor afectó significativamente su firmeza, pero las manzanas tratadas a 40-50°C por 20-90 minutos, promediaron una firmeza 1,7% menor que las manzanas no tratadas térmicamente.

El tratamiento térmico sólo fue efectivo en reducir el pardeamiento enzimático evaluado 24 h después del tratamiento térmico, para la variedad 'Eva' (las manzanas tratadas térmicamente presentaron un L^* significativamente mayor que las muestras control).

La aplicación de tratamiento térmico incrementó el contenido de polifenoles en las tres variedades estudiadas. En el caso de 'Caricia', se obtuvo un modelo con una dependencia cuadrática positiva con la temperatura, e incrementos en el contenido de polifenoles para los tratamientos realizados a más de 45°C. Mientras que para 'Eva' y 'Princesa', si bien no fue posible obtener un modelo, las manzanas tratadas promediaron un contenido polifenólico 30 y 13% superior que las manzanas control, respectivamente.

3.2.4. Efecto de los tratamientos térmicos suaves sobre la calidad de manzanas de las variedades seleccionadas luego de 7 días

Después de 24h de realizados cada uno de los tratamientos térmicos según el diseño experimental (2.2.3), el 50% de las manzanas tanto tratadas como control (sin tratamiento térmico) se pelaron, descorazonaron, cortaron, envasaron y se almacenaron a 1,5°C durante 7 días, para evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre la fruta mínimamente procesada luego del almacenamiento, sobre los parámetros:

- $\%RF = (Firmeza_{TT}/Firmeza_C) \cdot 100$
- $\partial L^* = [(L^*_{TT} - L^*_C)/L^*_C] \cdot 100$
- $\partial a^* = [(a^*_{TT} - a^*_C)/a^*_C] \cdot 100$
- $\partial b^* = [(b^*_{TT} - b^*_C)/b^*_C] \cdot 100$
- $\partial C_{ab}^* = [(C_{ab}^*_{TT} - C_{ab}^*_C)/C_{ab}^*_C] \cdot 100$
- $\partial h_{ab} = [(h_{abTT} - h_{abC})/h_{abC}] \cdot 100$
- $\%RPT = (Polifenoles_{TT}/Polifenoles_C) \cdot 100$

En todos los casos tanto el parámetro correspondiente a las muestras tratadas (TT) como a las control (C), corresponde al obtenido al día 7 de almacenamiento.

3.2.4.1. Efecto del corte y tiempo de almacenamiento sobre los atributos de calidad de las muestras control

En primer lugar, para evaluar el efecto del corte y el almacenamiento después de 7 días a 1,5°C, se compararon los resultados de firmeza, color y polifenoles totales de las muestras control de las tres variedades analizadas, obtenidos al día 0 y 7 de almacenamiento.

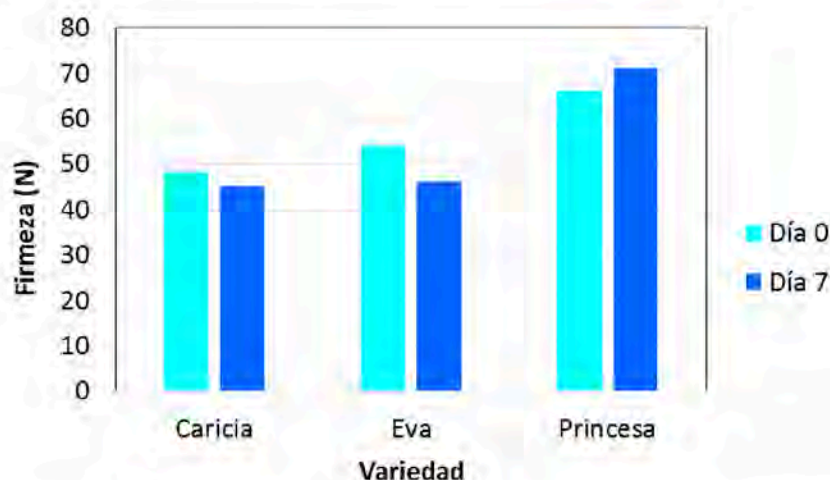


Figura 3.26. Firmeza de las muestras de manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento.

En la Figura 3.26 se presentan los resultados obtenidos para la firmeza. En el caso de ‘Caricia’ y ‘Eva’ se obtuvo una reducción del 6 y 15% respectivamente, mientras que para ‘Princesa’ se obtuvo un incremento en la firmeza del 7%. El aumento obtenido en la firmeza de ‘Princesa’ probablemente se debe a variabilidad en las muestras, mientras que el descenso en ‘Caricia’ y ‘Eva’ se puede explicar por el daño al tejido que genera la hidrólisis enzimática de las sustancias pécticas y la acción de las enzimas pectinolíticas, el descenso de la cristalinidad de la celulosa y el afinamiento de las paredes celulares, que se traduce en una pérdida de firmeza (Qi et al., 2011).

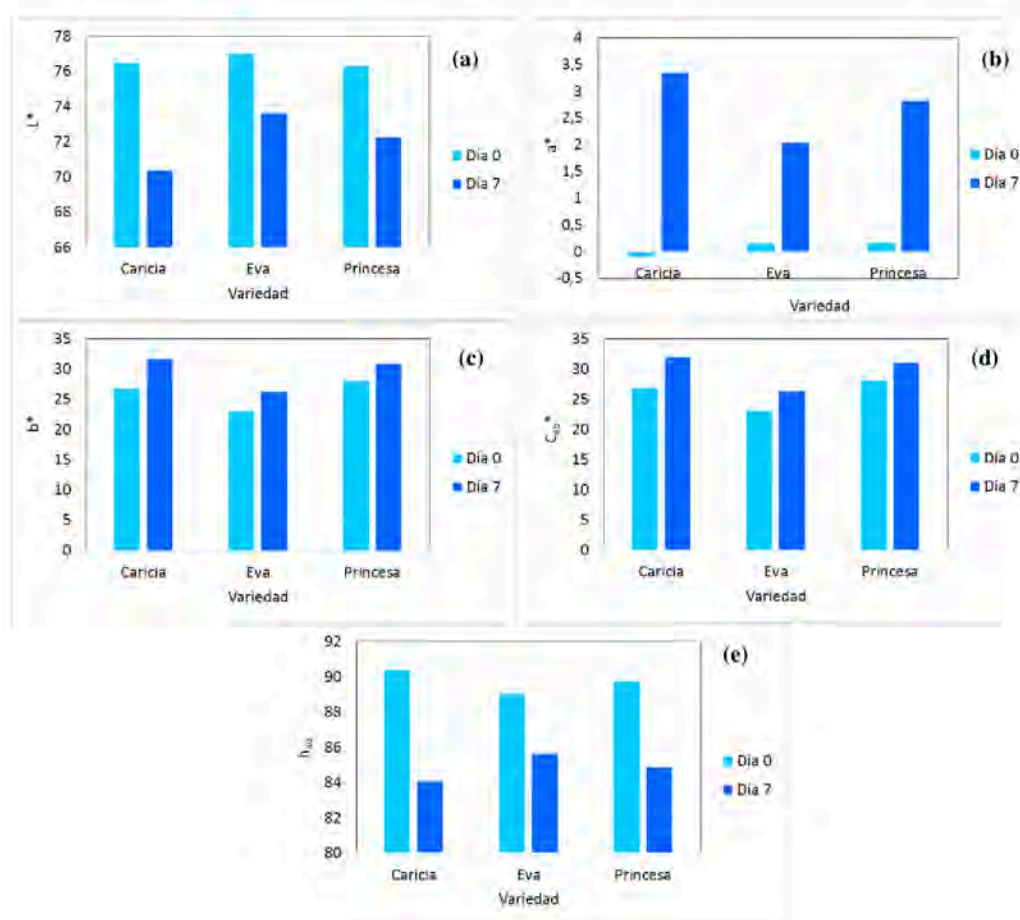


Figura 3.27. Parámetros instrumentales de color L^* (a), a^* (b), b^* (c), C_{ab}^* (d) y h_{ab} (e) de las manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento.

Los resultados de color obtenidos para las muestras control al día 0 y 7 se presentan en la Figura 3.27. El pardeamiento enzimático en manzanas se refleja en la medida instrumental de color por un descenso en los parámetros L^* y h_{ab} y un aumento en los parámetros a^* , b^* y C_{ab}^* (Piagentini et al., 2012). Este comportamiento se observó para las tres variedades, lo que significa que, como era esperable, todas las muestras control desarrollaron pardeamiento

enzimático luego de 7 días de almacenamiento, ‘Caricia’ fue la muestra que más se oscureció durante el almacenamiento (la luminosidad se redujo en un 8%).

Luego de 7 días a 1,5°C, el contenido de polifenoles de ‘Caricia’ y ‘Princesa’ aumentó en un 20 y 34%, respectivamente, mientras que ‘Eva’ sufrió una reducción del 6% (Figura 3.28). El estrés abiótico generado durante las operaciones de pelado, descorazonado y corte de las frutas crea una señal de daño que migra a los tejidos adyacentes intactos e induce varias respuestas fisiológicas. Uno de los principales cambios que se generan por el daño al tejido es la inducción del metabolismo fenilpropanoide, que resulta en la acumulación de compuestos polifenólicos (Saltveit, 2000). Parte de estos polifenoles son oxidados en la reacción de pardeamiento enzimático, pero si la oxidación no abarca el total de los polifenoles, el estrés abiótico puede generar un aumento en la concentración de compuestos polifenólicos, como ocurrió en ‘Caricia’ y ‘Princesa’.

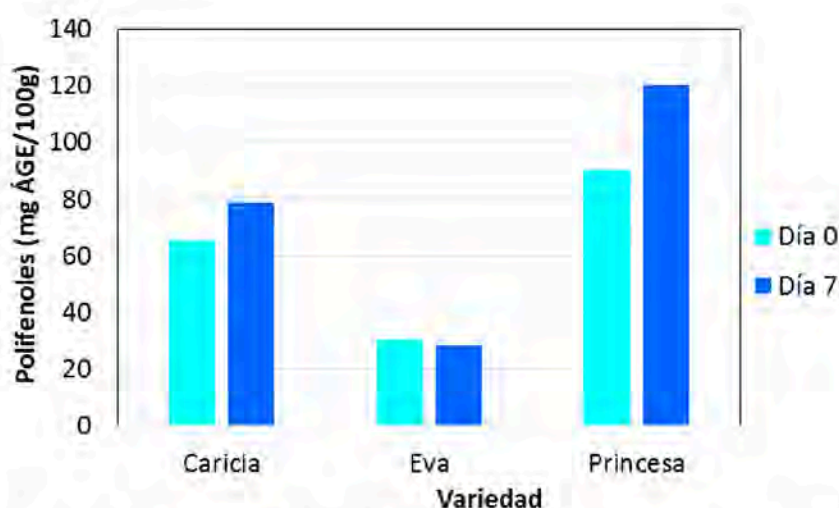


Figura 3.28. Polifenoles totales de las manzanas control al día 0 y 7 de almacenamiento.

3.2.4.2. Manzanas variedad ‘Caricia’

En la Tabla 3.18 se presenta el diseño factorial utilizado y los resultados experimentales correspondientes al porcentaje de retención de firmeza (%RF) y polifenoles (%RPT) de manzanas variedad ‘Caricia’, a los 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

Tabla 3.18. Resultados experimentales del diseño factorial para los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas 'Caricia', a los 7 días.

Nº Ensayo	Variables independientes		Respuestas	
	T (°C)	T (min)	%RF	%RPT
1	45	55	94,0	86,7
2	45	90	104,4	85,9
3	40	20	124,7	82,8
4	45	55	100,9	84,3
5	45	20	107,2	82,9
6	50	55	108,3	85,8
7	40	90	99,6	85,2
8	45	55	105,0	88,2
9	50	20	100,9	84,7
10	50	90	49,3	81,5
11	40	55	108,9	82,4

En la Tabla 3.19 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas porcentaje de retención de firmeza y de polifenoles.

Tabla 3.19. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad 'Caricia'.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	
		%RF	%RPT
X ₁ (T)	1	931,19*	0,39
X ₂ (t)	1	1055,19*	0,88
X ₁ ²	1	13,68	6,06
X ₁ .X ₂	1	175,82	7,82
X ₂ ²	1	67,08	3,91
Falta de ajuste	3	1139,33	11,36
Error puro	2	62,53	7,76
Coef. Determinación (R ²)		65%	54%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

◆ Efecto sobre la firmeza

El modelo propuesto para el porcentaje de retención de firmeza de ‘Caricia’ luego de 7 días de almacenamiento, no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5421$) y explicó el 65% de la variabilidad de los datos (Tabla 3.19). Los factores temperatura y tiempo fueron significativos ($p < 0,05$) y la retención de firmeza presentó una relación lineal negativa con ambos (Figura 3.29).

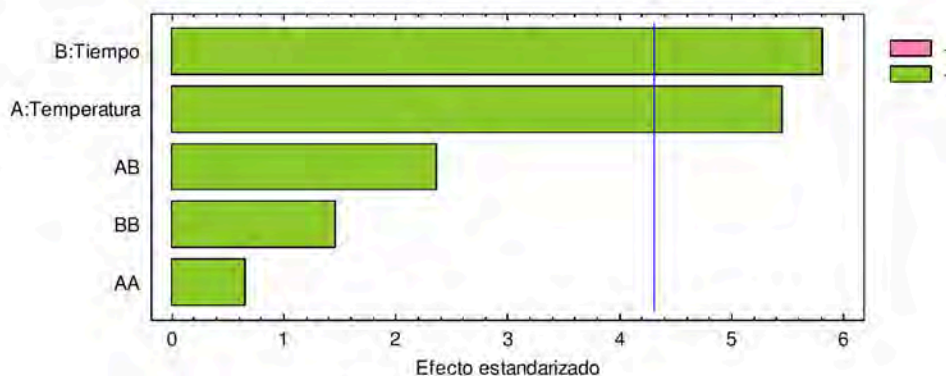


Figura 3.29. Diagrama estandarizado de Pareto para el porcentaje de retención de firmeza (%RF) de manzanas ‘Caricia’, luego de 7 días de almacenamiento.

El modelo reducido obtenido se presenta en la Ecuación 3.14.

$$\%RF = 233,26 - 2,49 * T - 0,38 * t \quad \text{Ecuación 3.14}$$

En la Figura 3.30 se presenta la superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de firmeza de ‘Caricia’, a los 7 días. Se observa que se obtienen incrementos en la firmeza ($\%RF > 100$) para las muestras tratadas principalmente durante 20-55 minutos, a 40-45°C.

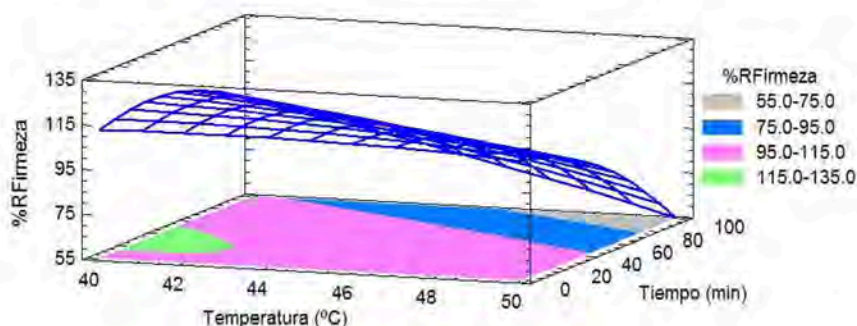


Figura 3.30. Superficie de respuesta obtenida para el porcentaje de retención de firmeza de manzanas ‘Caricia’, luego de 7 días de almacenamiento.

◆ Efecto sobre los polifenoles

De acuerdo al análisis de varianza realizado (Tabla 3.19), el modelo propuesto no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5421$) y sólo explicó el 54% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los términos del modelo fueron significativos ($p > 0,05$).

A los 7 días de almacenamiento, las manzanas 'Caricia' tratadas promediaron un contenido de polifenoles de 66,4 mg AGE/100g, un 15% inferior al contenido del control al día 7 y muy similar al valor obtenido al día 0 para el control de 'Caricia' (65,3 mg AGE/100g), producto de que las muestras control aumentaron su contenido de polifenoles totales durante el almacenamiento.

◆ Efecto sobre el color

En la Tabla 3.20 se presentan los resultados obtenidos para los porcentajes de ∂L^* , ∂a^* , ∂b^* , ∂C_{ab}^* y ∂h_{ab} para las manzanas 'Caricia' almacenadas durante 7 días y en la Tabla 3.21 el ANOVA obtenido para dichas respuestas.

Tabla 3.20. Resultados experimentales del diseño factorial de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Caricia'.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
1	45	55	1,2	-16,8	5,6	5,4	1,5
2	45	90	1,6	-16,3	1,0	0,8	1,1
3	40	20	0,9	-17,3	-5,5	-5,7	0,8
4	45	55	1,2	-18,3	-1,6	-1,7	1,2
5	45	20	-0,2	-12,2	1,5	1,3	0,9
6	50	55	3,6	-64,6	-7,6	-8,0	4,5
7	40	90	-1,7	3,7	3,3	3,3	-0,0
8	45	55	-1,3	2,3	3,7	3,7	0,0
9	50	20	-0,3	-0,5	-0,6	-0,6	0,0
10	50	90	-7,3	65,9	-2,1	-0,7	-4,9
11	40	55	-0,4	3,2	0,0	0,0	-0,3

Tabla 3.21. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Caricia’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X ₁ (T)	1	1,21	21,41	10,93	8,05	0,17
X ₂ (t)	1	10,34	1156,50	7,81	11,87	5,00
X ₁ ²	1	1,89	62,90	47,67	42,71	0,67
X ₁ .X ₂	1	4,83	516,43	6,69	20,20	4,17
X ₂ ²	1	8,02	1160,56	1,36	2,56	6,55
Falta de ajuste	3	43,03	5990,52	32,79	44,96	29,46
Error puro	2	3,99	262,5	27,30	27,46	1,16
Coef. Determinación (R ²)		38%	34%	61%	53%	37%

G.L: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 3.21, ninguno de los modelos obtenidos para los parámetros instrumentales de color presentaron falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} > 0,05$) y no se obtuvieron términos significativos en ninguno de los casos.

Las manzanas ‘Caricia’ tratadas a 40-50°C durante 20-90 minutos, mínimamente procesadas luego de 24 h de realizado el tratamiento térmico y almacenadas 7 días a 1,5°C presentaron: $\partial L^* = -0,24\% \pm 2,76$, $\partial a^* = -6,44\% \pm 30,69$, $\partial b^* = -0,21\% \pm 3,92$, $\partial C_{ab}^* = -0,20\% \pm 3,94$ y $\partial h_{ab} = 0,43\% \pm 2,21$. Teniendo en cuenta que los porcentajes de cambio de luminosidad (L^*), intensidad (C_{ab}^*) y tono (h_{ab}) fueron inferiores a $\pm 1\%$, se puede concluir que el color de las manzanas ‘Caricia’ tratadas térmicamente y sin tratar (control) fue igual luego de 7 días de almacenamiento.

3.2.4.3. Manzanas variedad ‘Eva’

En la Tabla 3.22 se presenta el diseño factorial utilizado y los resultados experimentales correspondientes al porcentaje de retención de firmeza (%RF) y polifenoles (%RPT) de manzanas variedad ‘Eva’, a los 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

En la Tabla 3.23 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas porcentaje de retención de firmeza y de polifenoles.

Tabla 3.22. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de firmeza y polifenoles de manzanas 'Eva', a los 7 días.

Nº Ensayo	Variables independientes		Respuestas	
	T (°C)	t (min)	%RF	%RPT
1	45	90	63,59	120,31
2	50	20	93,33	215,77
3	40	20	99,94	103,54
4	40	55	91,08	128,43
5	45	55	90,82	190,80
6	40	90	66,77	116,94
7	45	55	69,14	251,56
8	45	20	108,55	120,97
9	50	55	87,50	222,26
10	50	90	87,44	192,65
11	45	55	66,22	211,00

Tabla 3.23. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad 'Eva'.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	
		%RF	%RPT
X ₁ (T)	1	18,28	13231,70
X ₂ (t)	1	1176,50	17,94
X ₁ ²	1	124,23	1,81
X ₁ .X ₂	1	186,04	333,34
X ₂ ²	1	36,32	7818,97
Falta de ajuste	3	361,45	3949,87
Error puro	2	361,33	1915,50
Coef. Determinación (R ²)		69%	79%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

◆ Efecto sobre la firmeza

El modelo propuesto para el porcentaje de retención de firmeza de 'Eva' luego de 7 días de almacenamiento, no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,4474$) y explicó el 69% de la

variabilidad de los datos (Tabla 3.23). Ninguno de los factores estudiados fue significativo ($p > 0,05$).

A los 7 días, las manzanas 'Eva' tratadas presentaron una firmeza 16% menor que aquellas sin tratar.

◆ Efecto sobre los polifenoles

De acuerdo al análisis de varianza realizado (Tabla 3.23), el modelo propuesto no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,4474$) y explicó el 79% de la variabilidad de los datos. Los factores estudiados no fueron estadísticamente significativos.

A los 7 días de almacenamiento, las manzanas 'Caricia' tratadas promediaron un contenido de polifenoles de 48,3 mg ÁGE/100g, un 70% mayor que el contenido polifenólico de las manzanas control el mismo día (28,3 mg ÁGE/100g). A su vez, como el contenido de polifenoles de las manzanas tratadas al día 0 fue promediable por no detectarse factores significativos, se pudo comprobar que el contenido de polifenoles de las manzanas tratadas aumentó un 23% durante el almacenamiento.

◆ Efecto sobre el color

En la Tabla 3.24 se presentan los resultados obtenidos para los porcentajes de ∂L^* , ∂a^* , ∂b^* , ∂C_{ab}^* y ∂h_{ab} para las manzanas 'Eva' almacenadas durante 7 días y en la Tabla 3.25 el ANOVA obtenido para dichas respuestas.

Tabla 3.24. Resultados experimentales del diseño factorial para los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Eva'.

Nº ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
1	45	90	2,2	-14,1	-0,9	-1,0	0,6
2	50	20	4,4	-8,3	-2,5	-2,5	0,4
3	40	20	4,0	-40,1	-9,2	-9,4	1,7
4	40	55	4,1	-38,6	-6,2	-6,3	1,7
5	45	55	2,0	-32,3	-8,8	-8,9	1,3
6	40	90	2,9	0,3	3,6	3,6	0,1
7	45	55	2,9	-16,2	-2,3	-2,4	0,7
8	45	20	4,1	-30,3	-9,7	-9,8	1,2
9	50	55	2,9	-24,0	-0,9	-1,0	1,1
10	50	90	1,0	-8,6	-2,7	-2,7	0,4
11	45	55	2,9	-27,7	-3,4	-3,6	1,3

Tabla 3.25. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas 'Eva'.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X ₁ (T)	1	1,21	235,55	5,41	5,83	0,47
X ₂ (t)	1	6,93*	528,02	76,38	77,67	0,72
X ₁ ²	1	0,34	5,20	10,00	9,97	0,00011
X ₁ .X ₂	1	1,33	414,21	42,17	42,82	0,67
X ₂ ²	1	0,01	281,62	0,14	0,21	0,66
Falta de ajuste	3	0,82	129,95	11,36	11,28	0,24
Error puro	2	0,49	137,45	24,02	24,23	0,20
Coef. Determinación (R ²)		88%	85%	79%	80%	85%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

Efecto sobre ∂L^*

El modelo obtenido para el porcentaje de cambio de luminosidad no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5037$) y explicó el 88% de la variabilidad de los datos.

El único factor significativo fue el tiempo de calentamiento ($p= 0,0333$) y se encontró que el cambio relativo de luminosidad tiene una dependencia lineal negativa con este factor (Figura 3.31).

En la Figura 3.32 se observa que el porcentaje de ΔL^* disminuye con el tiempo de calentamiento, lo que implica que a mayor tiempo de calentamiento, las manzanas a los 7 días son más oscuras.

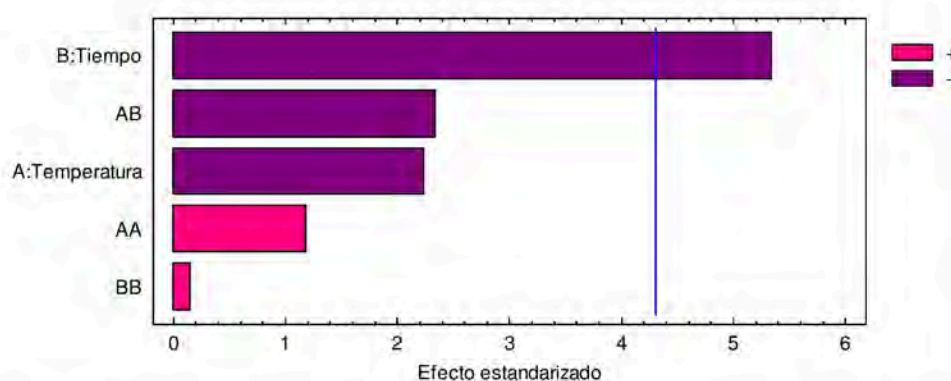


Figura 3.31. Diagrama de Pareto estandarizado para ΔL^* de manzanas 'Eva', a los 7 días de almacenamiento.

En la Ecuación 3.15 se presenta el modelo reducido para ΔL^* de 'Eva' a los siete días.

$$\% \Delta L^* = 4,73 - 0,031 * t \quad \text{Ecuación 3.15}$$

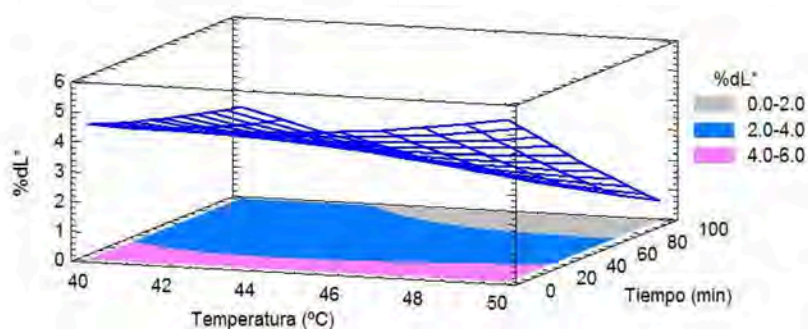


Figura 3.32. Superficie de respuesta obtenida para ΔL^* de manzanas 'Eva', a los 7 días de almacenamiento.

En la Tabla 3.24 se observa que los ΔL^* obtenidos para todos los tratamientos fueron positivos, lo que significa que la luminosidad de todas las muestras tratadas fue superior a la del control (mas claras), luego de 7 días de almacenamiento. El mayor L^* se obtuvo para las muestras tratadas a 50°C por 20 minutos.

Efecto sobre $\hat{c}a^$, $\hat{c}b^*$, $\hat{c}C_{ab}^*$ y $\hat{c}h_{ab}$*

Los modelos obtenidos para los porcentajes de $\hat{c}a^*$, $\hat{c}b^*$, $\hat{c}C_{ab}^*$ y $\hat{c}h_{ab}$ no presentaron falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} > 0,05$) y todos ellos explicaron más del 75% de la variabilidad de los datos. Ninguno de los modelos presentó términos significativos, por lo que los parámetros a^* , b^* , C_{ab}^* y h_{ab} de 'Eva', luego de 7 días, no fueron significativamente distintos entre tratamientos. Luego de 7 días a 1,5°C, los parámetros a^* , b^* y C_{ab}^* de las manzanas tratadas fueron inferiores a los mismos parámetros de las manzanas control (22, 4 y 4%, en promedio, respectivamente), mientras que el parámetro h_{ab} de las manzanas tratadas fue, en promedio, 1% mayor que el del control. Estos resultados implican, que durante el almacenamiento, las manzanas tratadas sufren un menor desarrollo de pardeamiento enzimático que las manzanas control, ya que presentan un color de pulpa menos rojizo y menos intenso.

3.2.4.4. Manzanas variedad 'Princesa'

En la Tabla 3.26 se presenta el diseño factorial utilizado y los resultados experimentales correspondientes al porcentaje de retención de firmeza (%RF) y polifenoles (%RPT) de manzanas variedad 'Princesa', a los 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

Tabla 3.26. Resultados experimentales del diseño factorial para el porcentaje de retención de firmeza y polifenoles de manzanas 'Princesa', a los 7 días.

N° Ensayo	Variables independientes		Respuestas	
	T (°C)	t (min)	%RF	%RPT
1	40	20	87,0	66,4
2	50	90	57,0	111,4
3	45	55	87,3	78,5
4	40	90	94,2	87,0
5	40	55	90,5	62,6
6	45	90	80,7	81,8
7	45	55	94,3	74,1
8	45	55	99,7	90,8
9	50	55	100,8	90,1
10	45	20	99,2	67,1
11	50	20	92,4	74,8

En la Tabla 3.27 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas porcentaje de retención de firmeza y de polifenoles.

Tabla 3.27. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los porcentajes de retención de firmeza y polifenoles de manzanas variedad ‘Princesa’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	
		% RF	% RPT
X ₁ (T)	1	77,11	603,62
X ₂ (t)	1	362,67	861,77
X ₁ ²	1	22,04	26,82
X ₁ .X ₂	1	450,97	63,64
X ₂ ²	1	189,20	4,41
Falta de ajuste	3	287,42	252,37
Error puro	2	38,38	148,86
Coef. Determinación (R ²)		76%	80%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

Efecto sobre la firmeza

El modelo para la retención de firmeza de ‘Princesa’ a los 7 días de almacenada (p_{falta de ajuste}= 0,5011), explicó el 76% de la variabilidad de los datos. Sin embargo, ninguno de sus términos fue significativo (p>0,05).

Al día 7, las manzanas control ‘Princesa’ presentaron una firmeza de 70,9 N, mientras que las tratadas promediaron 63,4 N (11% menor).

♦ Efecto sobre los polifenoles

El análisis de varianza (Tabla 3.27) reveló que, si bien el modelo para la retención de polifenoles no presentó falta de ajuste y obtuvo un R² del 80%, ninguno de sus términos fue significativo (p>0,05). El porcentaje de retención de polifenoles promedio a los 7 días fue del 80%, por lo que al final del almacenamiento las manzanas ‘Princesa’ tratadas presentaron un contenido de polifenoles totales 20% inferior que aquellas que no habían sido sometidas a los tratamientos térmicos.

♦ Efecto sobre el color

En la Tabla 3.28 se presentan los resultados obtenidos para los porcentajes de cambio de ∂L^* , ∂a^* , ∂b^* , ∂C_{ab}^* y ∂h_{ab} para las manzanas ‘Princesa’ almacenadas durante 7 días y en la Tabla 3.29 el ANOVA obtenido para dichas respuestas.

Tabla 3.28. Resultados experimentales del diseño factorial de los cambios porcentuales para los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’.

N° ensayo	Variables Independientes		Respuestas				
	T (°C)	t (min)	∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
1	40	20	-1,2	35,6	0,2	0,5	-2,2
2	50	90	-7,1	143,8	11,6	13,7	-7,6
3	45	55	-0,3	52,1	-0,2	0,0	-2,9
4	40	90	-0,4	21,9	3,2	3,3	-1,1
5	40	55	-0,3	7,0	2,9	3,0	-0,3
6	45	90	-3,9	56,3	11,5	12,0	-2,4
7	45	55	1,1	42,2	-0,5	-0,1	-2,6
8	45	55	1,1	19,2	-3,2	-3,4	-1,1
9	50	55	-0,4	54,6	0,8	1,3	-3,2
10	45	20	-0,4	22,1	1,3	1,5	-1,3
11	50	20	-0,8	50,7	4,0	4,5	-2,7

Tabla 3.29. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios porcentuales en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Princesa’.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados				
		∂L^*	∂a^*	∂b^*	∂C_{ab}^*	∂h_{ab}
X ₁ (T)	1	7,02	5673,33*	17,23	26,70	16,46*
X ₂ (t)	1	13,23*	2150,92	72,19*	84,21*	4,14
X ₁ ²	1	0,80	214,85	0,90	2,13	0,86
X ₁ .X ₂	1	12,22	2851,50	5,39	10,12	8,82
X ₂ ²	1	14,52*	785,63	68,52*	76,59*	1,28
Falta de ajuste	3	3,72	757,86	45,18	45,25	2,96
Error puro	2	1,42	568,72	5,48	7,65	1,75
Coef. Determinación (R ²)		90%	90%	77%	80%	87%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

Efecto sobre ∂L^*

El modelo obtenido para el porcentaje de retención de luminosidad no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,3841$) y explicó el 90% de la variabilidad de los datos.

Se encontró que ∂L^* tiene una dependencia cuadrática con el tiempo de calentamiento, y que la mayor luminosidad se obtiene para tiempos de calentamiento entre 20-60 min, para cualquier temperatura dentro del rango ensayado. Además se puede observar que a bajos tiempos la temperatura no influye, pero para altos tiempo de tratamientos, ∂L^* disminuye (la muestra tratada se oscurece) a medida que aumenta la temperatura (Figura 3.33).

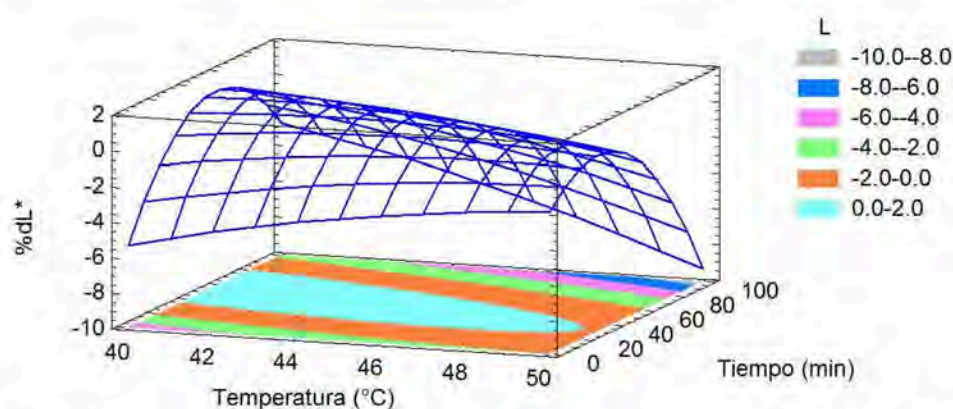


Figura 3.33. Superficie de respuesta obtenida para ∂L^* de manzanas 'Princesa', a los 7 días a $1,5^{\circ}\text{C}$.

En la Ecuación 3.16 se presenta el modelo reducido obtenido para ∂L^* de 'Princesa' a los 7 días de almacenamiento.

$$\% \partial L^* = -28,43 + 0,55 * T + 0,64 * t - 0,010 * T * t - 0,0021 * t^2 \quad \text{Ecuación 3.16}$$

En la Tabla 3.28, se observa que prácticamente todos los ∂L^* fueron negativos, por lo que las muestras tratadas eran más oscuras que las control, a los 7 días.

Efecto sobre ∂a^*

El modelo para ∂a^* no presentó falta de ajuste ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,5682$) y explicó el 90% de la variabilidad de los datos. El único factor significativo fue la temperatura y se encontró que ∂a^* aumentaba con la temperatura (Figura 3.34), lo que implica que a mayor temperatura mayor el tono rojo de las muestras tratadas.

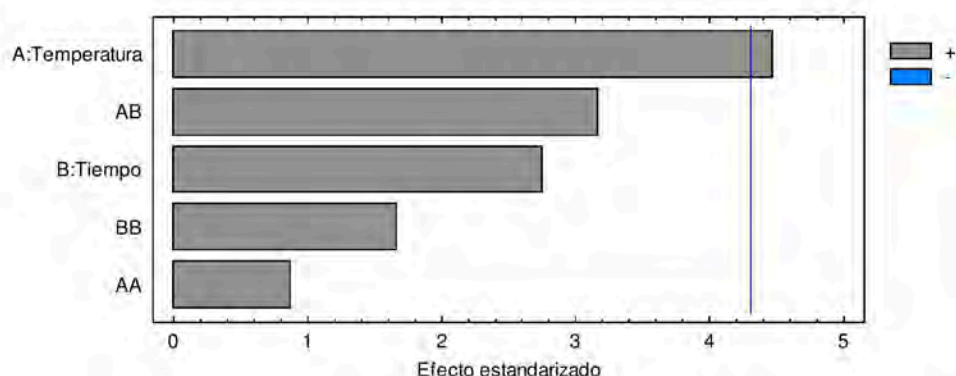


Figura 3.34. Diagrama de Pareto estandarizado para ∂a^* de manzanas 'Princesa', a los 7 días a 1,5°C.

El modelo reducido obtenido para ∂a^* se presenta en la Ecuación 3.17.

$$\partial a^* = -230,80 + 6,15 * T \quad \text{Ecuación 3.17}$$

Efecto sobre ∂b^ y ∂C_{ab}^**

Fue posible ajustar modelos para ∂b^* ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,1578$) y ∂C_{ab}^* ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,2089$), que explicaron el 77 y 80% de la variabilidad de los datos, respectivamente (Tabla 3.29). Ambos parámetros presentaron una dependencia cuadrática con el tiempo de calentamiento (Figuras 3.35 y 3.36). Para ambos parámetros se observa un mínimo (color menos intenso de las muestras tratadas) a tiempos de aproximadamente 20-60 minutos, coincidentemente con la región en que se encuentran las muestras más claras (mayor L^*).

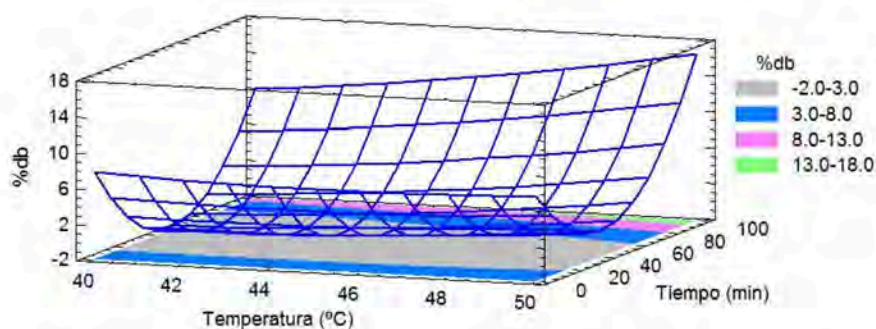


Figura 3.35. Superficie de respuesta obtenida para ∂b^* de manzanas 'Princesa', a los 7 días a 1,5°C.

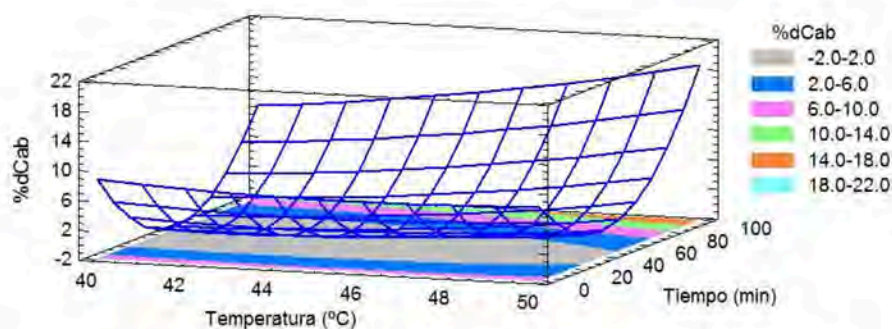


Figura 3.36. Superficie de respuesta obtenida para ∂C_{ab}^* de manzanas 'Princesa', a los 7 días a 1,5°C.

Los modelos reducidos para ∂b^* y ∂C_{ab}^* se presentan en las Ecuaciones 3.18 y 3.19, respectivamente.

$$\% \partial b^* = 7,72 - 0,38 * t + 0,0044 * t^2 \quad \text{Ecuación 3.18}$$

$$\% \partial C_{ab}^* = 8,46 - 0,41 * t + 0,0047 * t^2 \quad \text{Ecuación 3.19}$$

Efecto sobre h_{ab}

El modelo ajustado para ∂h_{ab} de 'Princesa' a los 7 días, presentó un R^2 de 87% y, de acuerdo al análisis de varianza realizado (Tabla 3.29), el único factor significativo fue la temperatura. Se encontró que los cambios relativos del ángulo de tono de 'Princesa' a los 7 días tiene una relación lineal negativa con la temperatura (Figura 3.37). Como se observa en la Tabla 3.28, los ∂h_{ab} obtenidos para todos los tratamientos térmicos fueron negativos, por lo tanto todos los tratamientos térmicos redujeron el ángulo de tono (tonos más rojizos).

En la Ecuación 3.20 se presenta el modelo reducido obtenido para ∂h_{ab} .

$$\partial h_{ab} = 12,43 - 0,33 * T \quad \text{Ecuación 3.20}$$

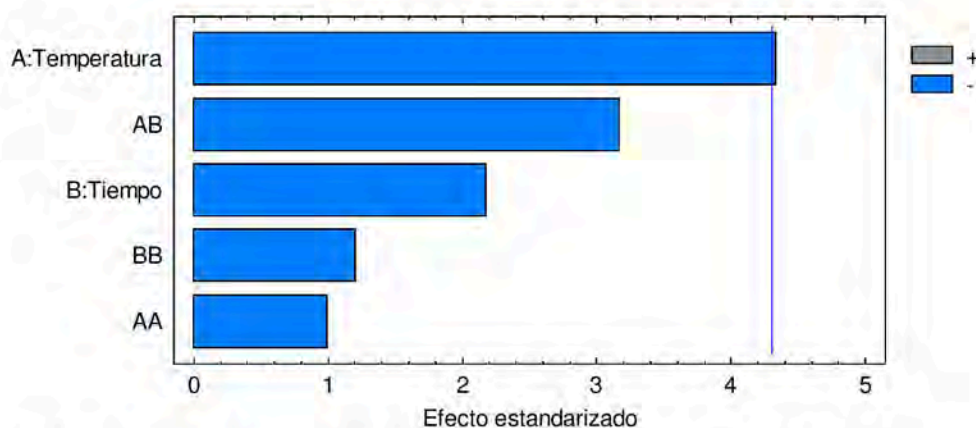


Figura 3.37. Gráfica de efectos principales para ∂h_{ab} de manzanas 'Princesa', a los 7 días a 1,5°C.

3.2.4.5. Análisis de los resultados obtenidos sobre las muestras tratadas térmicamente, mínimamente procesadas y almacenadas durante 7 días

Las tres variedades de manzana estudiadas presentaron distintos comportamientos luego de ser tratadas térmicamente, mínimamente procesadas luego de 24 h de tratadas térmicamente y almacenadas a 1,5°C durante 7 días.

En el caso de 'Caricia' y 'Princesa', los tratamientos térmicos no incrementaron la firmeza, redujeron el pardeamiento enzimático ni aumentaron el contenido de polifenoles totales. En las muestras de 'Caricia', se observaron incrementos en la firmeza (%RF>100) sólo para muestras tratadas a 40-45°C por 20-55 min, un contenido de polifenoles totales promedio para todos los tratamientos un 15% menor que el control, y no se detectó cambio en el color. Por su parte, las manzanas 'Princesa' tratadas térmicamente promediaron una firmeza y un contenido de polifenoles 11 y 20% menores que las muestras control, respectivamente. A su vez, los tratamientos térmicos provocaron un oscurecimiento en las muestras superior al control.

Por otro lado, observando los resultados obtenidos para 'Eva' luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C se puede concluir que los tratamientos térmicos aumentaron el contenido de polifenoles totales y redujeron el pardeamiento de la pulpa. Los factores temperatura y tiempo de calentamiento no fueron significativos en la retención de firmeza y polifenoles totales, sin embargo, las muestras 'Eva' tratadas promediaron una firmeza 16% inferior que el control y un contenido de polifenoles 70% mayor que el control. Por otro lado, todos los ΔL^* obtenidos fueron positivos (la luminosidad de todas las muestras tratadas fue mayor que las control) y las manzanas tratadas presentaron colores menos rojos e intensos que las control. Los mayores valores de %RF, %PT y ΔL^* así como el menor Δa^* de 'Eva' a los 7 días de almacenamiento, se obtienen para aquellas manzanas tratadas a altas temperaturas (aproximadamente 50°C) durante tiempos intermedios de calentamiento (30 a 40 minutos). No se obtuvieron las condiciones de temperatura y tiempo de calentamiento óptimas para la variedad 'Eva', ya que los modelos obtenidos no presentaron términos significativos.

Los resultados obtenidos son similares a los publicados por Kim et al. (1993), quienes aplicaron tratamientos térmicos a 11 variedades de manzana y luego de 24 horas a 2°C las pelaron, descorazonaron, cortaron y almacenaron durante 8 días a 2°C. Los autores reportaron diferencias entre la susceptibilidad de las variedades al pardeamiento por el calor y concluyeron que los tratamientos a 45°C generaban segmentos de manzana con menos pardeamiento y textura más firme que aquellas no tratadas. De acuerdo a Kim et al. (1993) la reducción en el

pardeamiento puede deberse a que el agua utilizada durante el tratamiento térmico retardó el intercambio de gases, resultando en una deficiencia de oxígeno y acumulación de dióxido de carbono.

Abreu et al. (2003) aplicaron tratamientos térmicos a peras enteras, que luego de mantener 24 horas a 2°C, pelaron, descorazonaron y cortaron en cuartos y almacenaron durante 7 días a 2°C. Estos autores concluyeron que la aplicación de tratamientos entre 35 y 45°C durante 40 a 150 minutos a peras 'Rocha' redujo o mantuvo el pardeamiento en la superficie cortada y aumentó la firmeza de las peras, al día 0 y, luego de 7 días a 2°C, se mantuvo el color de las peras, aunque la firmeza se redujo. Abreu et al. (2003) sugirieron que una reducción en la actividad enzimática de la polifenol oxidasa, enzima clave en la reacción de pardeamiento enzimático y no muy estable a temperaturas superiores a 40°C (García y Barrett, 2002), podría ser responsable por la reducción del oscurecimiento de la pulpa.

Koukouraras et al. (2008) estudiaron la aplicación de tratamientos térmicos a duraznos y concluyeron que someter a los duraznos enteros a un tratamiento a 50°C durante 10 minutos, 4 horas antes de cortarlos, controló el pardeamiento, mantuvo la firmeza y extendió la vida útil de los segmentos de durazno.

Alegria et al. (2012) obtuvieron contenidos de polifenoles totales superiores en zanahorias tratadas a 100°C durante 45 segundos que en aquellas sin tratar, luego de 7 días a 5°C y explicaron esta acumulación de compuestos bioactivos por la activación de la vía fenilpropanoide inducida por el daño.

3.3. APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS QUÍMICOS A MANZANAS FRESCAS CORTADAS

Se evaluó la utilización de infusiones de yerba mate como inhibidor del pardeamiento enzimático en manzanas frescas cortadas, en forma individual y combinada con ácidos cítrico y ascórbico, compuestos habitualmente utilizados en la industria de las frutas mínimamente procesadas.

La incorporación de infusiones de YM a las soluciones aplicadas durante el procesamiento de manzanas frescas cortadas se propone por ser un extracto de origen natural con actividad antioxidante, que ejerce a través de su alto contenido de polifenoles, inhibiendo las reacciones de pardeamiento enzimático, así como por el simultáneo incremento que pueden producir en el potencial saludable de estos productos.

3.3.1. Propiedades de la infusión de yerba mate para su utilización como antioxidante natural en manzanas frescas cortadas

El alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del “mate” (Heck y Mejía, 2007) lo convierten en un posible candidato para inhibir el desarrollo de pardeamiento enzimático en frutas frescas cortadas. Martín et al. (2010) aplicaron infusiones de yerba mate al 1 y 2% (m/v) a extractos de la enzima PPO de manzanas variedad ‘Princesa’ y concluyeron que los extractos de YM ejercen un efecto inhibitorio importante sobre la actividad de dicha enzima. La infusión de YM presenta un color amarillo verdoso que podría trasladarse a la fruta, por lo que resulta de interés estudiar su decoloración con carbón activado. Sin embargo, la decoloración puede provocar una disminución en la concentración de polifenoles del extracto y, por lo tanto, un descenso en su capacidad antioxidante.

Al aumentar la concentración de las infusiones de yerba mate, su contenido de polifenoles y capacidad antioxidante también aumenta (Figuras 3.38, 3.39, 3.40), pero simultáneamente aumenta la intensidad del color (Figura 3.41). Se observó que, a partir de una concentración de 2%, las infusiones de YM podrían modificar el color natural de la pulpa de manzana. Por lo tanto, se estudió el efecto de la decoloración de las infusiones de YM con carbón activado (CA).

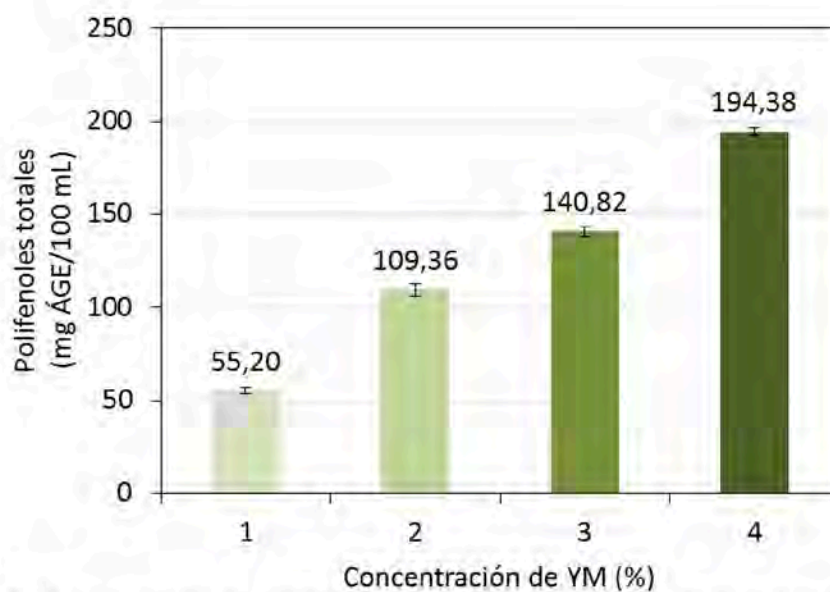


Figura 3.38. Contenido de polifenoles totales de infusiones de yerba mate (YM).

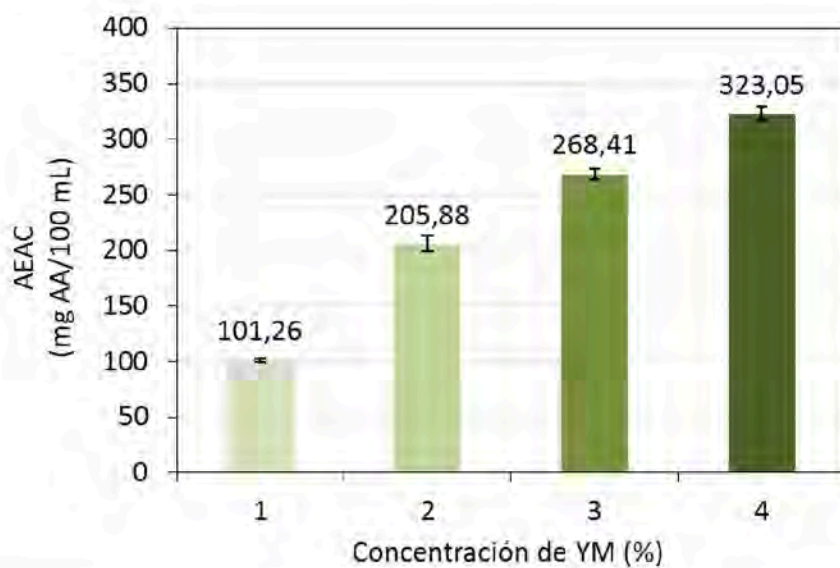


Figura 3.39. Capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate (YM), por el método del radical DPPH*.

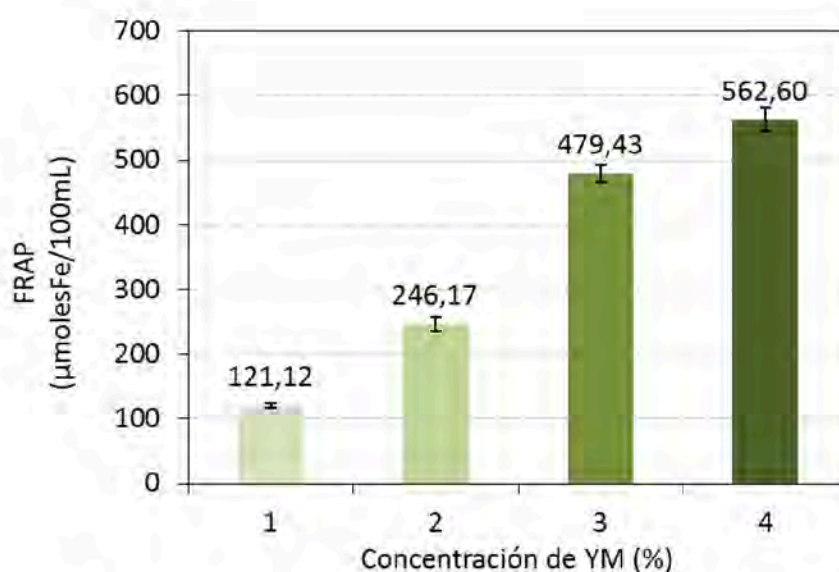


Figura 3.40. Capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate (YM), por el método de FRAP.

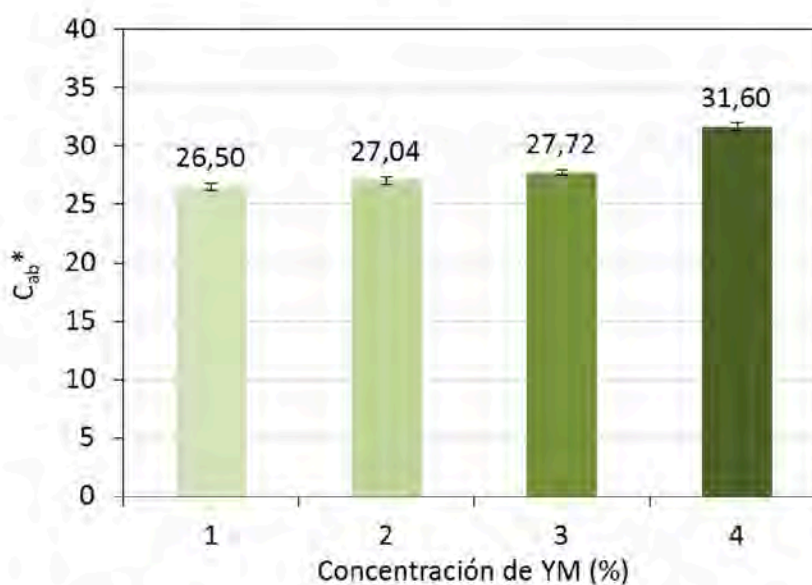


Figura 3.41. Parámetro de color Croma (C_{ab}*) de las infusiones de yerba mate (YM).

3.3.1.1. Efecto de la concentración de YM y concentración de carbón activado

Se evaluaron las propiedades de infusiones de yerba mate (YM) de concentraciones 2,0; 3,0 y 4,0%, decoloradas con ocho niveles de carbón activado (CA): 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0%. En la Tabla 3.30 se presentan los valores de pH y sólidos solubles de las infusiones sin decolorar.

Tabla 3.30. pH y sólidos solubles de las infusiones de yerba mate (YM).

% YM	pH	Sólidos solubles (°Brix)
2,0	6,1	0,4
3,0	5,8	0,8
4,0	5,6	1,2

♦ Color

La Tabla 3.31 presenta los resultados de color obtenidos para las infusiones preparadas con 2,0% de YM. Excepto en el caso de los extractos con 0,1 y 0,2% de CA, donde no se detectaron diferencias significativas, se observa que al aumentar la concentración de CA aumenta la luminosidad (L^*), y por lo tanto las infusiones se van aclarando. No existe diferencia significativa entre los valores de a^* (tono rojo) de las infusiones con 0 y 0,1% de CA, y éstas a su vez presentan el mayor valor de a^* , aunque los resultados obtenidos para todas las muestras fueron muy bajos. No existe diferencia significativa entre los valores de b^* (tono amarillo) de las infusiones con 0,8 y 1,0% de CA. b^* aumenta al disminuir el porcentaje de CA utilizado.

Tabla 3.31. Color de las infusiones de 2% de yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).

CA (%)	L^*	a^*	b^*	C_{ab}^*	h_{ab}
0,0	$(36,72 \pm 0,66)^a$	$(1,61 \pm 0,08)^b$	$(26,99 \pm 0,33)^g$	$(27,04 \pm 0,34)^g$	$(85,89 \pm 0,16)^c$
0,1	$(37,78 \pm 0,24)^b$	$(1,54 \pm 0,05)^b$	$(21,44 \pm 0,13)^f$	$(21,49 \pm 0,12)^f$	$(86,58 \pm 0,13)^c$
0,2	$(38,19 \pm 0,27)^b$	$(0,47 \pm 0,15)^a$	$(16,42 \pm 0,38)^e$	$(16,42 \pm 0,38)^e$	$(88,36 \pm 0,49)^d$
0,3	$(40,05 \pm 0,09)^c$	$(0,32 \pm 0,02)^a$	$(13,42 \pm 0,08)^d$	$(13,42 \pm 0,08)^d$	$(88,61 \pm 0,09)^{d,e}$
0,4	$(41,31 \pm 0,15)^d$	$(0,37 \pm 0,04)^a$	$(10,66 \pm 0,03)^c$	$(10,66 \pm 0,03)^c$	$(89,51 \pm 0,17)^e$
0,6	$(42,66 \pm 0,47)^e$	$(0,41 \pm 0,03)^a$	$(5,78 \pm 0,12)^b$	$(5,79 \pm 0,13)^b$	$(85,97 \pm 0,19)^c$
0,8	$(44,44 \pm 0,12)^f$	$(0,38 \pm 0,03)^a$	$(4,23 \pm 0,06)^a$	$(4,25 \pm 0,06)^a$	$(84,85 \pm 0,41)^b$
1,0	$(45,46 \pm 0,23)^g$	$(0,50 \pm 0,06)^a$	$(4,33 \pm 0,14)^a$	$(4,36 \pm 0,15)^a$	$(83,39 \pm 0,71)^a$

Promedios \pm desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

El parámetro C_{ab}^* (croma) representa la intensidad del color y presentó el mismo comportamiento que b^* . En cuanto al ángulo de tono (h_{ab}), el menor valor se detectó en la solución con mayor concentración de CA, pero en general se puede decir que todas las muestras

presentaron un color muy cercano al amarillo puro ($h_{ab} = 90^\circ$) y la intensidad (C_{ab}^*) y claridad (L^*) de su color se redujo con el aumento de la concentración de CA (Tabla 3.31).

En las Tablas 3.32 y 3.33 se presentan los resultados de color obtenidos para las infusiones de 3,0 y 4,0% de YM, respectivamente. L^* se mantiene constante en las infusiones con 0 a 0,2% de CA para los extractos de 3,0% de YM y con 0 a 0,3% de CA para aquellos de 4,0% de YM (Figura 3.43). En el caso del parámetro a^* , se obtuvieron valores decrecientes al aumentar el nivel de CA para un 4,0% de YM, mientras que para la concentración de 3,0% si bien el comportamiento no acompañó los cambios de concentración de CA, los resultados obtenidos fueron tan bajos que tienen poca influencia en el color global de los extractos. Para ambos niveles de YM, b^* y C_{ab}^* se comportaron igual y, en general, aumentaron al disminuir el porcentaje de CA (Figura 3.44). Por último, h_{ab} , presentó valores cercanos a 90° (amarillo puro) tanto para infusiones con 3,0 como con 4,0% de YM.

Tabla 3.32. Color de las infusiones de 3% de yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).

CA (%)	L^*	a^*	b^*	C_{ab}^*	h_{ab}
0,0	(37,32 ± 0,40) ^a	(1,48 ± 0,05) ^c	(27,68 ± 0,23) ^h	(27,72 ± 0,23) ^h	(86,94 ± 0,11) ^b
0,1	(38,17 ± 0,41) ^a	(0,88 ± 0,03) ^d	(21,57 ± 0,12) ^g	(21,57 ± 0,12) ^g	(87,65 ± 0,08) ^c
0,2	(38,04 ± 0,40) ^a	(0,52 ± 0,04) ^c	(17,56 ± 0,17) ^f	(17,57 ± 0,17) ^f	(88,32 ± 0,12) ^c
0,3	(39,44 ± 0,19) ^b	(0,28 ± 0,03) ^b	(14,09 ± 0,05) ^c	(14,09 ± 0,05) ^e	(89,06 ± 0,17) ^e
0,4	(40,83 ± 0,20) ^b	(0,04 ± 0,01) ^a	(10,62 ± 0,08) ^d	(10,62 ± 0,08) ^d	(89,80 ± 0,02) ^{d,e}
0,6	(43,68 ± 0,12) ^c	(0,10 ± 0,06) ^a	(6,88 ± 0,10) ^c	(6,88 ± 0,10) ^c	(89,20 ± 0,51) ^d
0,8	(44,66 ± 0,24) ^d	(0,53 ± 0,03) ^c	(4,76 ± 0,08) ^b	(4,79 ± 0,08) ^b	(83,65 ± 0,25) ^a
1,0	(45,35 ± 0,50) ^c	(0,39 ± 0,03) ^b	(3,58 ± 0,08) ^a	(3,60 ± 0,09) ^a	(83,76 ± 0,34) ^a

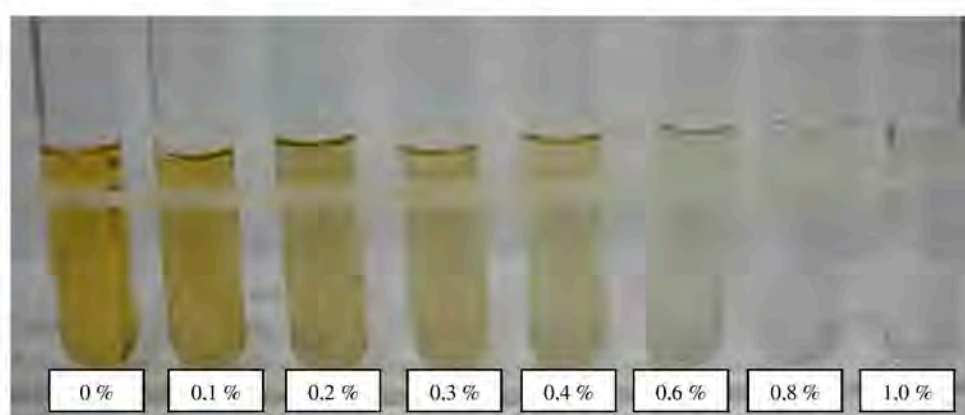
Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

Tabla 3.33. Color de las infusiones de 4% yerba mate (YM) decoloradas con carbón activado (CA).

CA (%)	L*	a*	b*	C _{ab} *	h _{ab}
0,0	(34,81 ± 0,67) ^a	(4,11 ± 0,23) ^e	(31,34 ± 0,34) ^f	(31,60 ± 0,36) ^f	(82,54 ± 0,37) ^a
0,1	(34,27 ± 0,08) ^a	(2,97 ± 0,03) ^d	(28,00 ± 0,13) ^e	(28,15 ± 0,13) ^e	(83,95 ± 0,05) ^b
0,2	(34,92 ± 0,35) ^a	(2,55 ± 0,09) ^d	(24,69 ± 0,24) ^e	(24,82 ± 0,25) ^e	(84,10 ± 0,15) ^b
0,3	(34,69 ± 0,17) ^a	(1,85 ± 0,31) ^c	(21,22 ± 2,71) ^d	(21,30 ± 2,72) ^d	(85,05 ± 0,28) ^b
0,4	(36,18 ± 0,34) ^b	(0,86 ± 0,06) ^b	(17,67 ± 1,83) ^c	(17,69 ± 1,83) ^c	(87,20 ± 0,17) ^c
0,6	(38,88 ± 0,36) ^c	(0,00 ± 0,10) ^a	(12,24 ± 0,32) ^b	(12,24 ± 0,32) ^b	(90,03 ± 0,51) ^e
0,8	(41,32 ± 0,26) ^d	(0,14 ± 0,08) ^a	(5,56 ± 0,14) ^a	(5,56 ± 0,14) ^a	(88,59 ± 0,80) ^d
1,0	(43,95 ± 0,24) ^e	(0,18 ± 0,06) ^a	(6,13 ± 0,06) ^a	(6,14 ± 0,06) ^a	(88,28 ± 0,50) ^{c,d}

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

Comparando los resultados presentados en las Tablas 3.31, 3.32 y 3.33, se observa claramente que, como se podía esperar, al aumentar la concentración de YM se requiere un nivel superior de CA para alcanzar un grado aceptable de decoloración. Mientras que para una concentración de YM del 2,0%, se obtiene un color de infusión aceptable mediante la utilización de 0,3% de CA, para un 3,0% de YM se requiere un 0,4% de CA y para 4,0% de YM es necesario aplicar al menos, 0,6% de CA. El color de las infusiones con 2,0% de YM, con distintas concentraciones de decolorante, puede observarse en la Figura 3.42.

**Figura 3.42.** Infusiones de 2,0% de yerba mate decoloradas con 0,0% a 1,0% de carbón activado.

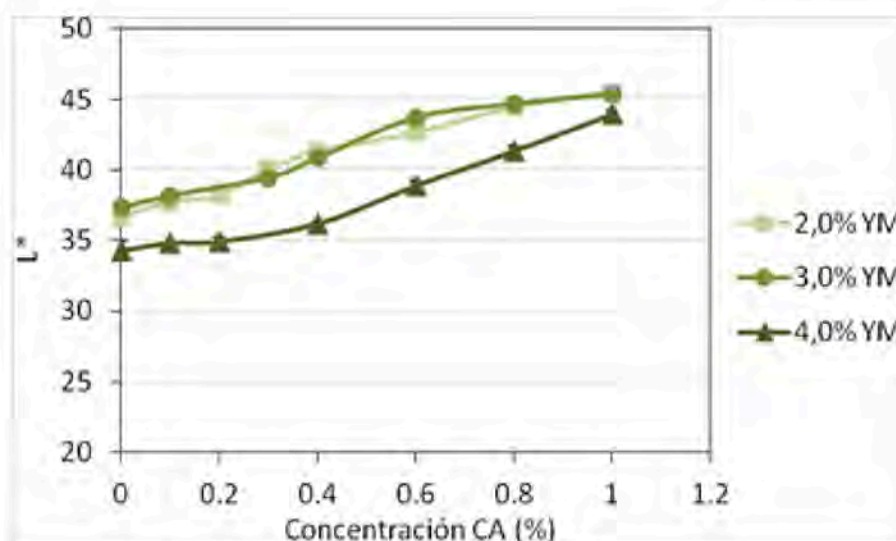


Figura 3.43. Variación del parámetro instrumental de color L^* de infusiones de yerba mate (YM) decoloradas con distintas concentraciones de carbón activado (CA).

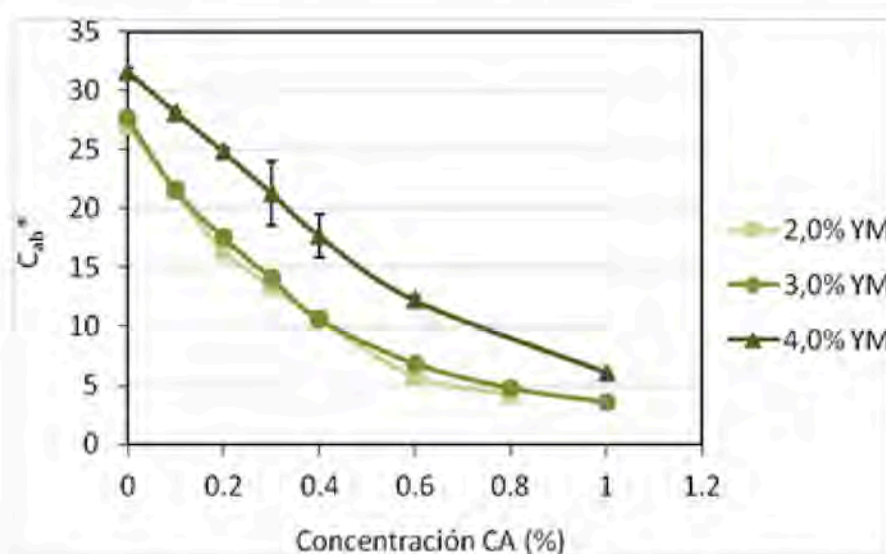


Figura 3.44. Variación del parámetro instrumental de color C_{ab}^* de infusiones de yerba mate (YM) decoloradas con distintas concentraciones de carbón activado (CA).

◆ Compuestos polifenólicos totales

En la Tabla 3.34 se presenta el contenido de polifenoles totales de las distintas infusiones, en función de la concentración de CA. Los extractos sin decolorar presentan un alto contenido de polifenoles (109,36; 140,82 y 194,38 mg ÁGE/100 mL para 2,0; 3,0 y 4,0% de YM, respectivamente). Bravo et al. (2007) determinaron el contenido de polifenoles totales en infusiones de tres YM comerciales diferentes, con una concentración del 1% y obtuvieron resultados que variaron entre 72,90 y 76,00 mg ÁGE/100 mL. Rodríguez Vaquero et al. (2010)

también estudiaron el contenido de polifenoles en *Ilex paraguariensis* obtenida en farmacia y obtuvieron un contenido de 92,5 mg ÁGE/100 mL, para una concentración de 0,8%. Por otro lado, Chandra y González de Mejía (2004) también determinaron el contenido total de polifenoles del mate, obteniendo resultados similares a los aquí presentados. En general, las concentraciones de polifenoles reportadas son del mismo orden a los obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existen muchos factores que influyen en la composición química de la YM, entre los que se destacan el contenido de palos y de polvo, el proceso industrial aplicado para la obtención de la YM comercial y el método de preparación del extracto (Dellacassa y Bandoni, 2001).

Tabla 3.34. Contenido de polifenoles totales (mg ÁGE/100 mL) de infusiones de yerba mate decoloradas con carbón activado.

Carbón activado (%)	Yerba Mate (%)		
	2,0	3,0	4,0
0,0	(109,36 ± 3,48) ^g	(140,82 ± 2,58) ^g	(194,38 ± 2,12) ^h
0,1	(89,27 ± 1,26) ^f	(111,95 ± 5,24) ^f	(171,61 ± 2,09) ^g
0,2	(66,42 ± 1,10) ^e	(88,25 ± 1,06) ^e	(146,81 ± 2,95) ^f
0,3	(47,82 ± 4,84) ^d	(71,03 ± 0,39) ^d	(111,84 ± 2,14) ^e
0,4	(35,59 ± 0,27) ^c	(53,81 ± 0,83) ^c	(95,91 ± 5,57) ^d
0,6	(9,89 ± 0,03) ^b	(22,93 ± 1,02) ^b	(53,81 ± 2,95) ^c
0,8	(3,32 ± 0,09) ^a	(5,91 ± 0,18) ^a	(26,29 ± 1,63) ^b
1,0	(1,57 ± 0,01) ^a	(2,90 ± 0,22) ^a	(13,22 ± 0,56) ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

En todos los casos, la concentración de polifenoles disminuye con la concentración de CA. En el caso de las infusiones de 2,0 y 3,0% de YM, a partir de 0,8% de CA, no se detecta diferencia significativa en el contenido polifenólico (Figura 3.45). Rodríguez Vaquero et al. (2010) también determinaron el contenido de polifenoles en una infusión de 0,8% de YM (m/v) sin decolorar y decolorada con 3% (m/v) de CA y detectaron un fuerte descenso en el contenido de polifenoles, obteniéndose concentraciones de 92,5 y 0,6 mg ÁGE/100 mL, respectivamente.

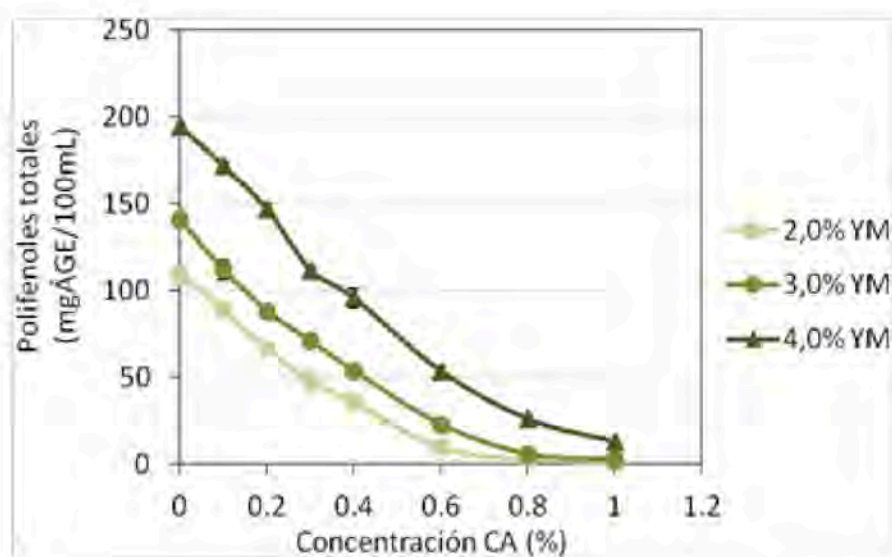


Figura 3.45. Variación del contenido de polifenoles totales de infusiones de yerba mate (YM) decolorados con distintas concentraciones de carbón activado (CA).

♦ Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate se determinó por dos métodos, el de la reacción con el radical DPPH* y FRAP (Tabla 3.35 y 3.36).

Tabla 3.35. Actividad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* (mg ÁAe/100 mL) para infusiones de yerba mate decolorada con carbón activado.

Carbón activado (%)	Yerba Mate (%)		
	2,0	3,0	4,0
0,0	(205,88 ± 6,79) ^f	(268,41 ± 5,58) ^g	(323,05 ± 5,27) ^g
0,1	(143,72 ± 2,97) ^e	(205,71 ± 1,87) ^f	(307,08 ± 10,00) ^g
0,2	(108,62 ± 0,86) ^d	(165,26 ± 10,54) ^e	(226,04 ± 1,64) ^f
0,3	(86,60 ± 3,21) ^c	(125,30 ± 0,02) ^d	(197,26 ± 1,46) ^e
0,4	(55,04 ± 1,91) ^b	(85,33 ± 5,41) ^c	(145,46 ± 3,84) ^d
0,6	(10,78 ± 0,15) ^a	(29,42 ± 1,22) ^b	(103,69 ± 1,47) ^c
0,8	(3,28 ± 0,36) ^a	(7,74 ± 2,25) ^a	(45,41 ± 0,53) ^b
1,0	(1,18 ± 0,01) ^a	(2,16 ± 0,62) ^a	(18,77 ± 0,13) ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

Los extractos de YM sin decolorar presentaron actividades antioxidantes muy altas, que fueron decreciendo al aumentar el grado de decoloración (Figuras 3.46 y 3.47). En las infusiones con 2,0% de YM, la capacidad antioxidante determinada por DPPH* desciende al ir

aumentando el nivel de CA hasta una concentración de 0,6% CA, a partir de la cual, la actividad antioxidante se mantiene constante. Al determinarla por el método de FRAP se encontró que la actividad antioxidante es siempre descendiente con la concentración de CA, salvo para 0,6-0,8% y 0,8-1,0% donde no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$). La capacidad antioxidante de los extractos con 3,0% de YM desciende al aumentar la concentración de CA hasta 0,8% y luego se mantiene constante, para ambos métodos de análisis. En los extractos con 4,0% de YM, la capacidad antioxidante determinada por DPPH* desciende conforme la concentración de CA aumenta hasta 1,0%, mientras que al determinarla por FRAP disminuye hasta 0,8% y no se detectan diferencias significativas entre 0,8 y 1,0%.

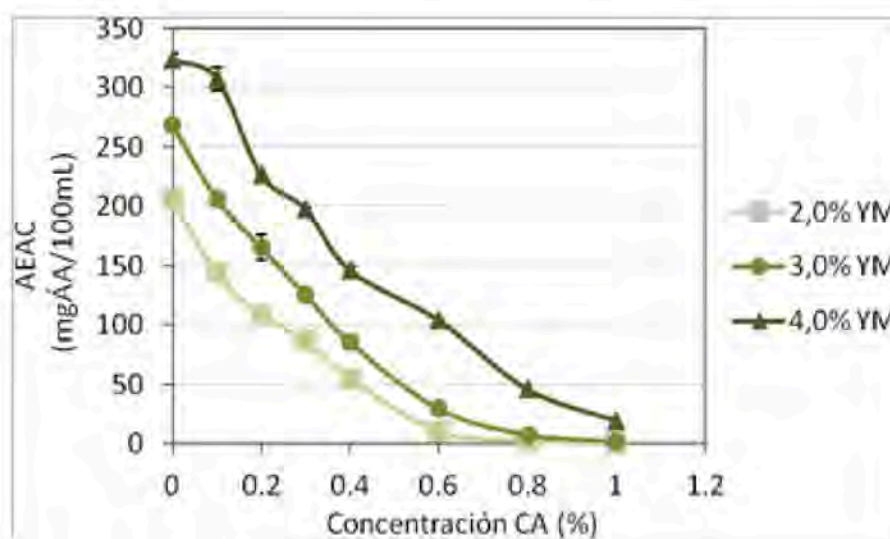
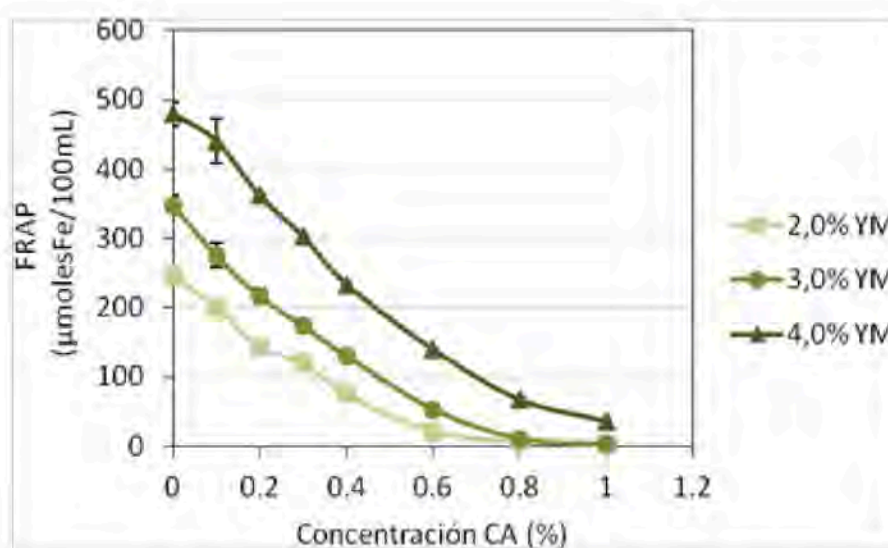


Figura 3.46. Variación de la capacidad antioxidante de infusiones de yerba mate determinada por el método del DPPH*, en función de la concentración de carbón activado.

Tabla 3.36. Actividad antioxidante determinada por el método de FRAP ($\mu\text{moles Fe}/100\text{ mL}$) para infusiones de yerba mate decolorada con carbón activado.

Carbón activado (%)	Yerba Mate (%)		
	2,0	3,0	4,0
0,0	(246,17 \pm 11,82) ^g	(347,90 \pm 13,59) ^g	(479,43 \pm 17,89) ^g
0,1	(200,28 \pm 2,07) ^f	(275,70 \pm 17,34) ^f	(440,14 \pm 31,49) ^f
0,2	(143,40 \pm 1,66) ^e	(216,45 \pm 10,95) ^e	(361,18 \pm 2,06) ^e
0,3	(119,71 \pm 1,55) ^d	(173,39 \pm 4,43) ^d	(302,65 \pm 4,23) ^d
0,4	(75,44 \pm 0,31) ^c	(130,33 \pm 6,10) ^c	(233,70 \pm 3,10) ^c
0,6	(20,88 \pm 0,54) ^b	(53,14 \pm 2,13) ^b	(139,79 \pm 1,00) ^b
0,8	(7,05 \pm 0,15) ^{a,b}	(10,58 \pm 4,69) ^a	(36,07 \pm 1,13) ^a
1,0	(2,58 \pm 0,01) ^a	(3,04 \pm 0,58) ^a	(18,77 \pm 0,13) ^a

Promedios \pm desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey).

**Figura 3.47.** Variación de la capacidad antioxidante de infusiones de yerba mate determinada por el método de FRAP, en función de la concentración de carbón activado.

Ambos métodos (DPPH* y FRAP) presentaron una muy buena correlación entre ellos, obteniéndose un $R = 0,96$ (Tabla 3.37). Se encontró una excelente correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante determinada por los métodos de FRAP ($R = 0,95$) y del radical DPPH* ($R = 0,99$). En la Tabla 3.37 se presentan los coeficientes de correlación (R) entre polifenoles, capacidad antioxidante, y parámetros de color para las infusiones de yerba mate ensayadas. Estos resultados demuestran que la capacidad antioxidante de las infusiones de YM se explica principalmente, por su contenido de compuestos

polifenólicos. La actividad antioxidante de los fenoles se debe fundamentalmente a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, dadores de hidrógeno y captadores de oxígeno singulete (Kähkönen et al., 1999). Bravo et al. (2007) analizaron la composición fenólica de un extracto de yerba mate en ácido clorhídrico, metanol y acetona y detectaron 28 compuestos polifenólicos distintos. Del contenido fenólico total, el 80% correspondía a 9 ésteres del ácido hidroxicinamoil quínico y a glicósidos flavonoles. Bravo et al. (2007) atribuyeron la alta actividad antioxidante del mate a los derivados del ácido hidroxicinámico por ser sus constituyentes fenólicos principales, ya que, a pesar de que los flavonoides son fuertes antioxidantes, se encuentran en concentraciones relativamente bajas.

3.3.1.2. Relación entre color, contenido de polifenoles y actividad antioxidante de las infusiones de yerba mate

En la Tabla 3.37 se presentan los coeficientes de correlación de Pearson entre color, contenido polifenólico y capacidad antioxidante de las infusiones. Todas las correlaciones fueron altamente significativas ($p < 0,001$). La luminosidad presentó una correlación negativa con el contenido de polifenoles ($R = -0,94$) y la actividad antioxidante por DPPH ($R = -0,93$) y FRAP ($R = -0,85$), lo que se condice con que conforme aumenta la concentración de CA utilizada para la decoloración, la infusión se va aclarando pero va perdiendo polifenoles y, por lo tanto, actividad antioxidante.

Tabla 3.37. Coeficientes de correlación de Pearson (R) entre los diferentes atributos estudiados de las infusiones de yerba mate.

	PT	AEAC	FRAP	L*	C _{ab} *
PT	—				
AEAC	0,99***	—			
FRAP	0,95***	0,96***	—		
L*	-0,94***	-0,93***	-0,85***	—	
C _{ab} *	0,97***	0,98***	0,92***	-0,94***	—

PT: polifenoles totales (mg AGE/100g), AEAC: capacidad antioxidante por el método del radical DPPH* (mg ÁAe/100g), FRAP: capacidad antioxidante por el método de FRAP (μ moles Fe/100g).

NS: no significativo, *: significativo $p < 0,05$, **: significativo $p < 0,01$, ***: significativo $p < 0,001$.

Como se dijo anteriormente, las infusiones con 2,0; 3,0 y 4,0% de YM requieren como mínimo un 0,3; 0,4 y 0,6% de CA para obtener una decoloración apreciable, respectivamente. A su vez, en el caso del 2,0% de YM la aplicación de una concentración de CA superior al 0,3% genera una mayor pérdida de polifenoles, y por lo tanto de actividad antioxidante, y lo mismo

ocurre en el caso de los extractos con 3,0 y 4,0% de YM, si el nivel de CA supera el 0,4 y 0,6%, respectivamente.

3.3.1.3. Modelado de la variación de color, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de las infusiones de yerba mate

La variación de los distintos parámetros estudiados de las infusiones de YM aquí en función de la concentración de carbón activado se ajusta a un modelo de primer orden ($n=1$) que sigue la Ecuación 2.14, tal como se indicó en la sección 2.3.1.3.

En la Tabla 3.38 se presentan los valores de las constantes de variación de los parámetros estudiados y los coeficiente de determinación (R^2) obtenidos. Como se puede observar, el ajuste fue muy bueno en todos los casos ($R^2 \geq 0,96$). Las constantes de cambio para 2,0 y 3,0% de YM son mayores, y similares entre sí, que para 4%. Las constantes de polifenoles totales y actividad antioxidante determinada por ambos métodos analíticos, son más altas que las obtenidas para el color. Por lo tanto se puede inferir que la aplicación de concentraciones crecientes de CA tiene un efecto mayor sobre los compuestos bioactivos que sobre el color de las infusiones.

Tabla 3.38. Constantes de variación de los parámetros estudiados en infusiones de yerba mate (YM) en función de la concentración de carbón activado (CA).

Yerba Mate (%)	k_{polif}	k_{DPPH^*}	k_{FRAP}	k_{L^*}	k_{Cab^*}
2,0	4,52 ($R^2=0,98$)	5,42 ($R^2=0,98$)	4,77 ($R^2=0,98$)	0,22 ($R^2=0,97$)	2,39 ($R^2=0,99$)
3,0	4,04 ($R^2=0,97$)	4,88 ($R^2=0,97$)	4,89 ($R^2=0,97$)	0,21 ($R^2=0,96$)	2,37 ($R^2=0,99$)
4,0	2,73 ($R^2=0,98$)	2,80 ($R^2=0,96$)	2,66 ($R^2=0,98$)	0,25 ($R^2=0,97$)	1,67 ($R^2=0,99$)

[k_i]: (%)⁻¹

El hecho de que las constantes de cambio de polifenoles y actividad antioxidante obtenidas sean mayores que las de cambio de color (Tabla 3.38), indican que la decoloración es más efectiva en la pérdida de compuestos bioactivos que en la decoloración de la infusión. Por lo tanto, se decide estudiar la aplicación a manzanas frescas cortadas, de infusiones de yerba mate sin decolorar, para aprovechar su máxima concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.

3.3.2. Evaluación preliminar del efecto de diferentes tratamientos antioxidantes

Se realizó una evaluación preliminar del efecto de la aplicación de tratamientos con infusiones de yerba mate, sola o en combinación con ácido cítrico y ácido ascórbico, sobre los compuestos bioactivos, capacidad antioxidante, calidad sensorial y cambios en el color de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas. Además, se determinó un rango de concentraciones de yerba mate, sola o combinada con ácido cítrico y ascórbico, apropiado para su aplicación a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.

3.3.2.1. Caracterización de las soluciones antioxidantes aplicadas

Las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas se prepararon de acuerdo a lo descrito en la sección 2.3.2.1 del capítulo Materiales y Métodos, y fueron sometidas a distintos tratamientos antioxidantes. En la Tabla 3.39 se presentan las soluciones aplicadas y sus valores de pH y sólidos solubles.

Tabla 3.39. pH y sólidos solubles de los tratamientos aplicados a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.

Tratamiento	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)	pH	Sólidos solubles (°Brix)
T1	0	0	0	7,46	-
T2	4	0	0	5,60	1,2
T3	2	0	0	6,05	0,4
T4	1	0	0	6,43	0,2
T5	0	1	1	2,15	1,7
T6	2	1	1	2,52	2,3
T7	1	1	1	2,33	2,0

C_{YM}: concentración yerba mate; C_{AC}: concentración ácido cítrico; C_{AA}: concentración ácido ascórbico.

En la Tabla 3.39 se observa que el agregado de ácido (T5, T6 y T7) genera una disminución del pH (aquellos con ácidos cítrico y ascórbico presentan un pH inferior) y que al incorporar YM a los ácidos se produce un ligero aumento del pH (pH T5 < pH T7 < pH T6). Las soluciones con mayor contenido de sólidos solubles son T5, T6 y T7, aquellas en las que se encuentran presentes los ácidos cítrico y ascórbico.

La actividad antioxidante obtenida por los métodos del DPPH* y FRAP de las soluciones aplicadas se presenta en la Tabla 3.40.

Tabla 3.40. Capacidad antioxidante (CAO) de las soluciones aplicadas a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.

Tratamiento	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)	CAO por DPPH* (mg ÁAe/100mL)	CAO por FRAP (μmoles Fe/100mL)
T1	0	0	0	-	-
T2	4	0	0	(319,89 ± 4,07) ^b	(474,25 ± 19,15) ^c
T3	2	0	0	(195,10 ± 1,48) ^{a,b}	(242,82 ± 5,21) ^b
T4	1	0	0	(101,26 ± 1,90) ^a	(121,12 ± 3,74) ^a
T5	0	1	1	(932,98 ± 24,67) ^c	(743,18 ± 1,03) ^d
T6	2	1	1	(1570,64 ± 27,81) ^c	(1467,20 ± 0,59) ^c
T7	1	1	1	(1329,40 ± 104,48) ^d	(941,71 ± 2,71) ^d

C_{YM}: concentración yerba mate; C_{AC}: concentración ácido cítrico; C_{AA}: concentración ácido ascórbico. Promedios (n=3) ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa (p<0,05, test de Tukey) entre tratamientos.

Comparando las soluciones T2 a T7, el tratamiento T6 (2%YM+1%ÁC+1%ÁA) presentó la mayor actividad antioxidante determinada tanto por el método del radical DPPH* como por el método de FRAP. En contraposición, T4 (1%YM) presentó el nivel más bajo de capacidad antioxidante.

3.3.2.2. Efecto de los tratamientos antioxidantes sobre manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas

♦ pH y sólidos solubles

Todos los tratamientos con YM y/o ÁC y ÁA aplicados a manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas redujeron significativamente el pH de las muestras (p<0,05), excepto para T1 (agua) y T4 (1% YM). Los tratamientos aplicados no modificaron significativamente el contenido de sólidos solubles de las manzanas (p>0,05), obteniéndose valores de entre 11,1 y 11,8°Brix (Tabla 3.41).

Tabla 3.41. pH y sólidos solubles de manzanas.

Muestra	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)	pH	Sólidos solubles (°Brix)
T0 (MP)	-	-	-	(3,65 ± 0,11) ^b	(11,8 ± 0,1) ^a
T1	0	0	0	(3,45 ± 0,05) ^{a,b}	(11,2 ± 0,2) ^a
T2	4	0	0	(3,40 ± 0,01) ^a	(11,4 ± 0,4) ^a
T3	2	0	0	(3,42 ± 0,06) ^a	(11,3 ± 0,6) ^a
T4	1	0	0	(3,47 ± 0,05) ^{a,b}	(11,3 ± 0,7) ^a
T5	0	1	1	(3,39 ± 0,10) ^a	(11,1 ± 0,3) ^a
T6	2	1	1	(3,30 ± 0,05) ^a	(11,2 ± 0,5) ^a
T7	1	1	1	(3,39 ± 0,10) ^a	(11,7 ± 0,7) ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos.

◆ Color

El desarrollo de pardeamiento enzimático en manzanas produce un cambio de color de la pulpa que puede representarse a través de los parámetros instrumentales de color. El pardeamiento produce una disminución de L^* y h_{ab} , y un aumento de a^* , b^* y C_{ab}^* , es decir el color aumenta su intensidad, se oscurece y aumenta el tono rojizo (Piagentini et al. 2012).

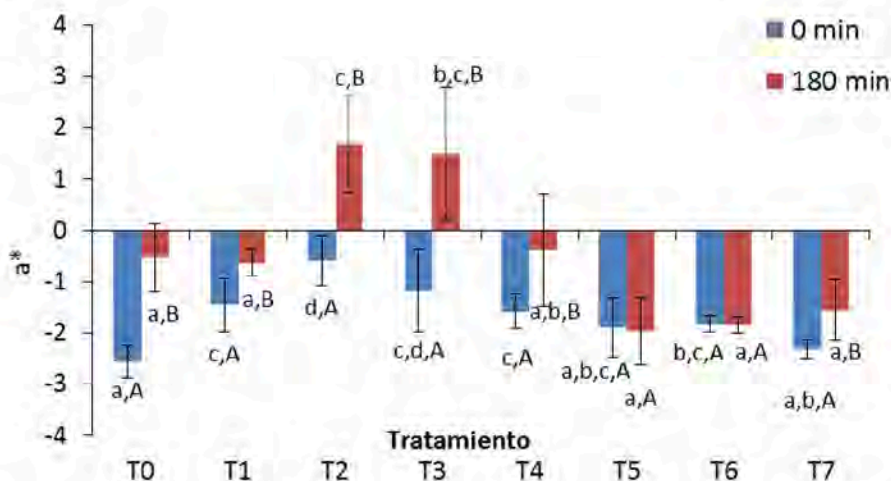
Una vez finalizado el procesamiento de las manzanas, éstas se mantuvieron a temperatura ambiente, durante 180 minutos, midiéndose instrumentalmente el color cada 30 minutos. En la Tabla 3.42, se puede ver que las muestras T2 y T3 presentaron la menor luminosidad (L^*) a tiempo 0. Al cabo de los 180 minutos se observó un descenso del parámetro L^* (oscurecimiento) en T0, T1, T2 y T3, mientras que en el resto de las muestras la luminosidad se mantuvo durante ese período. Estos resultados indican que la aplicación de YM sola, al 4 o 2%, favorece el oscurecimiento de las muestras. Por otro lado, al aplicar YM en combinación con AC y AA no se obtuvo un efecto negativo sobre el color.

Tabla 3.42. Parámetros instrumentales de color L^* , C_{ab}^* y h_{ab} de manzanas frescas cortadas luego de 0 y 180 min de tratadas.

Tratamiento	L^*		C_{ab}^*		h_{ab}	
	0 min	180 min	0 min	180 min	0 min	180 min
T0	76,49 ^{b,B}	73,59 ^{a,b,A}	19,13 ^{b,c,A}	23,72 ^{b,c,B}	97,74 ^{d,B}	91,68 ^{b,c,A}
T1	76,69 ^{b,B}	75,34 ^{b,c,A}	15,75 ^{a,A}	17,50 ^{a,B}	95,23 ^{c,B}	92,13 ^{c,d,A}
T2	74,32 ^{a,B}	70,75 ^{a,A}	20,15 ^{c,d,A}	23,23 ^{b,c,B}	91,78 ^{a,B}	86,22 ^{a,A}
T3	74,59 ^{a,B}	71,68 ^{a,A}	21,75 ^{d,A}	24,45 ^{c,A}	93,25 ^{a,b,B}	87,34 ^{a,b,A}
T4	76,27 ^{b,A}	75,27 ^{b,c,A}	19,11 ^{b,c,A}	20,26 ^{a,b,A}	94,73 ^{b,c,B}	91,37 ^{b,c,A}
T5	76,43 ^{b,A}	76,26 ^{b,c,A}	17,66 ^{a,b,A}	17,63 ^{a,A}	96,09 ^{c,d,A}	96,31 ^{d,A}
T6	76,53 ^{b,A}	76,76 ^{c,A}	16,92 ^{a,b,A}	16,64 ^{a,A}	96,20 ^{c,d,A}	96,39 ^{d,A}
T7	76,31 ^{b,A}	76,43 ^{c,A}	17,85 ^{a,b,A}	17,58 ^{a,A}	96,28 ^{c,d,B}	94,90 ^{c,d,A}

Para cada parámetro, letras minúsculas distintas, dentro de una misma columna, indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos y letras mayúsculas distintas, dentro de una misma fila, indican diferencia significativa ($p < 0,05$, prueba t de Student) entre tiempos.

T1, T5, T6 y T7 presentaron el menor valor de croma C_{ab}^* , y el ángulo de tono (h_{ab}) más alto, a tiempo 0. Luego de 180 min, las muestras T0, T1 y T2 presentaron un aumento significativo ($p < 0,05$) en el C_{ab}^* . Mientras que T5 y T6 fueron los únicos tratamientos que mantuvieron el valor inicial de h_{ab} al cabo de 180 minutos.

**Figura 3.48.** Parámetro instrumental de color a^* de manzanas frescas cortadas.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos y letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, prueba t de Student) entre tiempos.

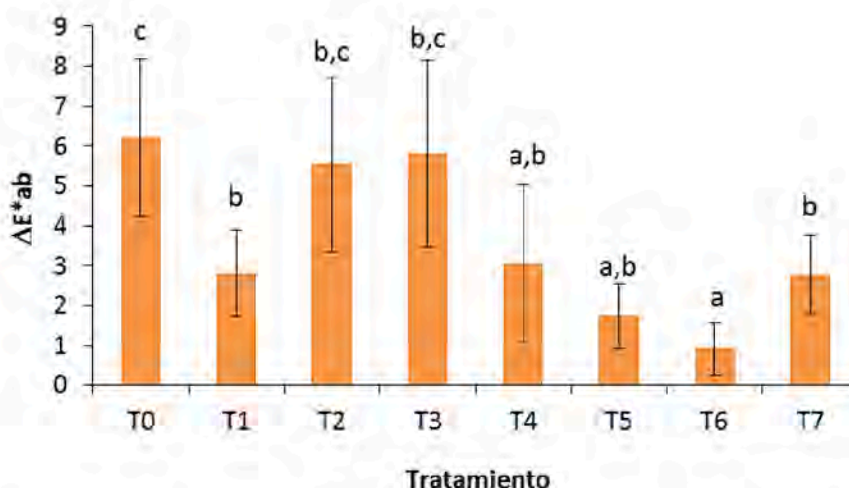


Figura 3.49. Diferencia total de color (ΔE^*_{ab}) de manzanas frescas cortadas. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos.

Piagentini et al. (2012) compararon el color de manzanas mínimamente procesadas, de variedad ‘Granny Smith’ y ‘Princesa’, tratadas con 1% ÁC + 1% AA y sin tratar y encontraron que, para ambas variedades, las muestras tratadas químicamente presentaron valores de L^* significativamente más altos que aquellas sin tratar, luego de 15 días a 2,5°C.

El aumento del valor absoluto del parámetro a^* indica mayor desarrollo de tono rojo, cuando $a^* > 0$, y mayor tono verde si $a^* < 0$. En la Figura 3.48 se observa que, al cabo de los 180 minutos los tratamientos con 4 y 2% de YM (T2 y T3) provocan un cambio de color de verde a rojo. Por otra parte, T6 presenta la menor diferencia total de color (Figura 3.49).

La evaluación del color a lo largo de 180 minutos mostró que las manzanas tratadas con ÁC y ÁA solos o en combinación con YM (T5, T6 y T7) no presentaron grandes variaciones (Figura 3.49).

Terminado este tiempo, aquellas muestras que mantenían un buen color fueron mantenidas en cámara de refrigeración a 1,5°C por 24 horas junto con la materia prima, para evaluar el comportamiento de los parámetros de color en un período más largo y a una menor temperatura. En la Tabla 3.43 se presentan los resultados. A las 24 horas de almacenamiento refrigerado T6 presentó los valores más altos de luminosidad y ángulo de tono, mientras que la materia prima (T0) presentó los mayores valores de a^* , b^* y C_{ab}^* . Todas las muestras presentaron aumentos y descensos significativos ($p < 0,05$) en a^* y h_{ab} , respectivamente. Por otro lado, T5, T6 y T7 no presentaron cambios significativos ($p > 0,05$) en los parámetros L^* , b^* y

C_{ab}^* , durante las 24 horas de almacenamiento. En la Figura 3.50 se representan los resultados obtenidos para L^* .

Tabla 3.43. Parámetros instrumentales de color de manzanas frescas cortadas al tiempo 0 y luego de 24 horas en cámara a 1,5°C.

Tratamiento	L^*		a^*		b^*		C_{ab}^*		h_{ab}	
	0 h	24 h	0 h	24 h	0 h	24 h	0 h	24 h	0 h	24 h
T0	76,49 ^{a,B}	72,21 ^{a,A}	-2,57 ^{a,A}	0,39 ^{b,B}	18,95 ^{b,A}	24,11 ^{b,B}	19,13 ^{b,A}	24,18 ^{b,B}	97,74 ^{b,B}	89,74 ^{a,A}
T5	76,43 ^{a,A}	75,46 ^{a,A}	-1,90 ^{b,A}	-1,28 ^{a,B}	17,55 ^{a,b,A}	18,16 ^{a,A}	17,66 ^{a,b,A}	18,23 ^{a,A}	96,09 ^{a,B}	94,20 ^{b,A}
T6	76,53 ^{a,A}	76,25 ^{b,A}	-1,83 ^{b,A}	-1,57 ^{a,B}	16,82 ^{a,A}	17,03 ^{a,A}	16,92 ^{a,A}	17,10 ^{a,A}	96,20 ^{a,B}	95,25 ^{b,A}
T7	76,31 ^{a,A}	75,60 ^{b,A}	-2,32 ^{a,A}	-1,19 ^{a,B}	17,76 ^{c,A}	18,18 ^{a,b,A}	17,85 ^{a,b,A}	18,24 ^{a,A}	96,28 ^{a,B}	93,74 ^{b,A}

Para cada parámetro, letras minúsculas distintas, dentro de una misma columna, indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos y letras mayúsculas distintas, dentro de una misma fila, indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Student) entre tiempos.

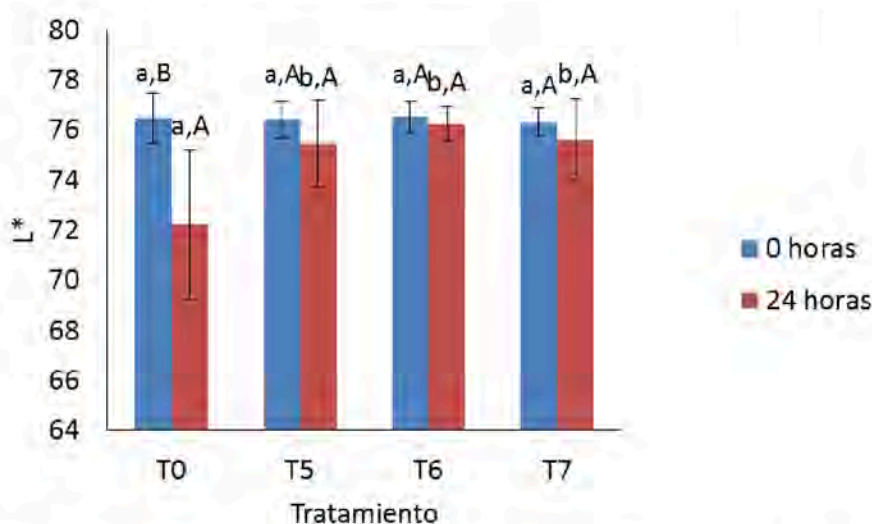


Figura 3.50. Parámetro instrumental de color L^* de manzanas frescas cortadas, inicial y luego de 24 horas a 1,5°C.

Letras minúsculas distintas para un mismo tiempo indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos. Letras mayúsculas distintas para un mismo tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Student) entre tiempos.

Estos resultados indican que las muestras tratadas T5 (0% YM, 1% ÁC, 1% ÁA), T6 (2% YM, 1% ÁC, 1% ÁA) y T7 (1% YM, 1% ÁC, 1% ÁA) fueron las que presentaron menor desarrollo de pardeamiento.

◆ Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales obtenido para T0 (MP) (Figura 3.51), es del mismo orden que los publicados en bibliografía. Drogoudi y Pantelidis (2011) determinaron 31,2 mg ÁGE por 100g de pulpa fresca de manzana ‘Granny Smith’, mientras que Song et al. (2007) obtuvieron un valor aproximado de 100 mg ÁGE/100g, para la misma variedad.

El lavado con agua (T1) redujo el contenido de polifenoles de la materia prima. Los tratamientos T5 (0% YM, 1% ÁC, 1% ÁA), T6 (2% YM, 1% ÁC, 1% ÁA) y T7 (1% YM, 1% ÁC, 1% ÁA) incrementaron el contenido de polifenoles totales en las muestras, con respecto a la materia prima (T0).

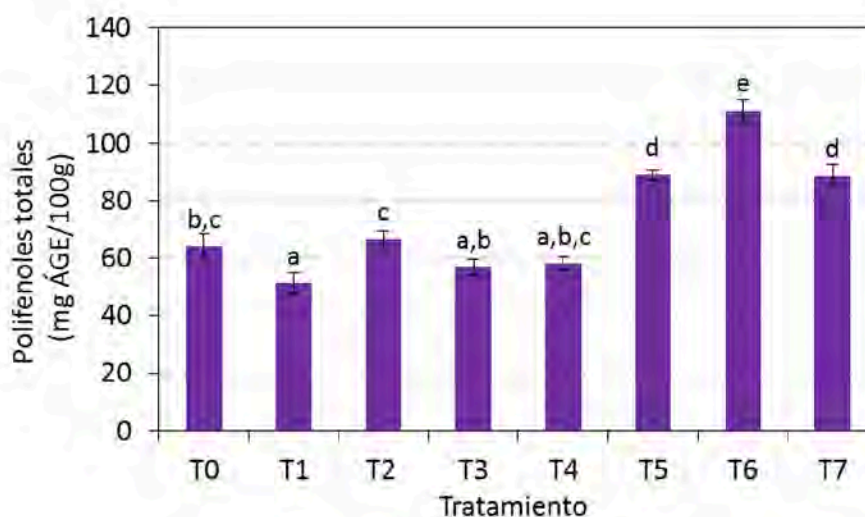


Figura 3.51. Contenido de polifenoles totales de manzanas frescas cortadas. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos.

T6 presentó el mayor nivel de compuestos polifenólicos (111,2 mg ÁGE/100g), seguido por T5 y T7 (88,9 y 88,7 mg ÁGE/100g, respectivamente). T1, con 51,3 mg ÁGE/100g, fue el tratamiento con concentración de polifenoles más baja, junto con T3 y T4, que tuvieron valores similares a la materia prima (Figura 3.51).

◆ Capacidad antioxidante por el método del radical DPPH*

Similarmente a lo que se encontró en el contenido de polifenoles totales, T6 presentó la mayor actividad antioxidante (141,65 mg ÁAe/100g), mientras que las manzanas tratadas con agua (T1), presentaron la menor capacidad antioxidante por este método (38,53 mg ÁAe/100g). Sin embargo, T1 no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) con T3 y T4 (Figura 3.52).

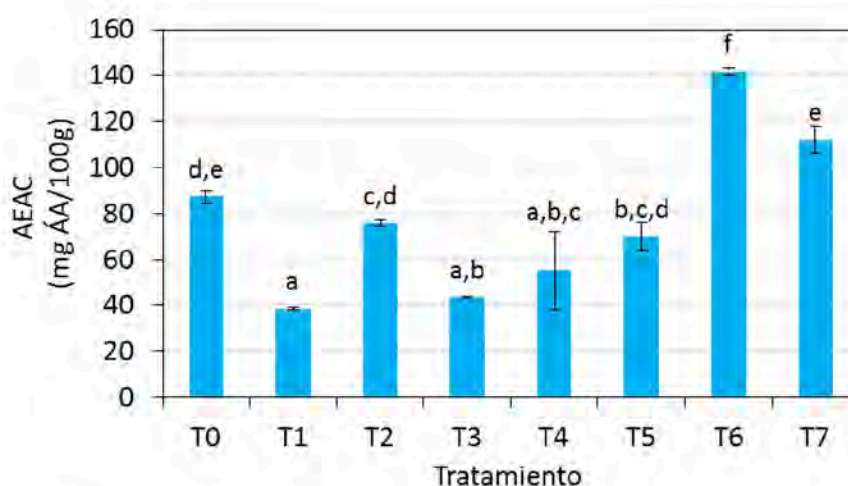


Figura 3.52. Actividad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* de manzanas frescas cortadas.

Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos.

♦ Capacidad antioxidante por el método de FRAP

Los resultados coinciden con aquellos obtenidos por el método de DPPH*, siendo T6 la mayor capacidad antioxidante y T1 la menor (407,73 y 175,82 $\mu\text{moles Fe}/100\text{g}$, respectivamente (Figura 3.53).

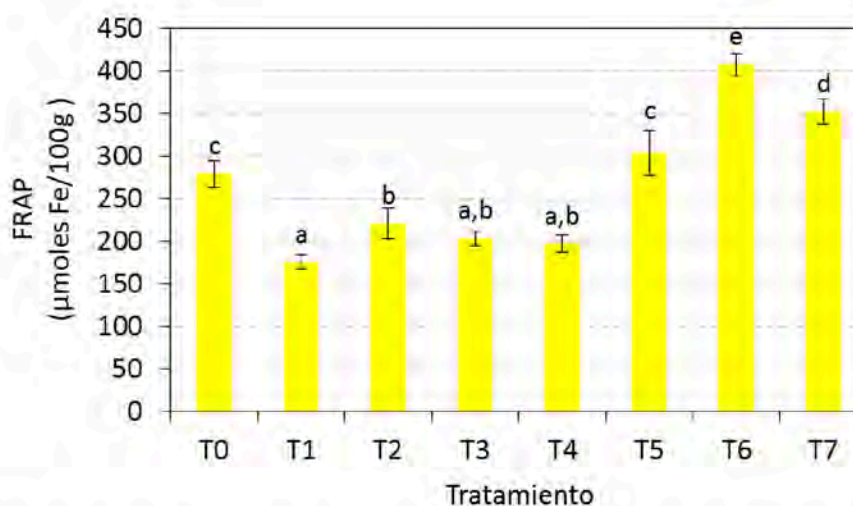


Figura 3.53. Actividad antioxidante determinada por el método de FRAP, de manzanas frescas cortadas.

Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos.

Drogoudi y Pantelidis (2011) determinaron la AEAC en la pulpa de manzanas ‘Granny Smith’ y obtuvieron resultados del mismo orden (34,3 mg ÁAe/100g) que los informados en el presente trabajo para la MP. A su vez, Depetris et al. (2009) aplicaron una solución acuosa de 1% ÁC + 1% ÁA a manzanas frescas cortadas ‘Granny Smith’, determinaron actividad

antioxidante por el método del radical DPPH* y obtuvieron resultados similares a los obtenidos en el presente estudio, para T5 (0% YM, 1% ÁC, 1% ÁA).

◆ Evaluación sensorial

Las manzanas tratadas con las soluciones T2 y T3 (4 y 2% de YM, respectivamente) presentaron el menor puntaje en apariencia general y el mayor nivel de pardeamiento (Tabla 3.44). Sin embargo, al combinar YM con ÁC y ÁA, no se observa este efecto perjudicial, ya que los puntajes de estas muestras son muy similares a los que obtuvo T5 (tratamiento con ÁC y ÁA, sin YM). Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial coinciden con aquellos obtenidos al determinar el color instrumentalmente (T2 y T3 presentaron el menor L*).

Tabla 3.44. Evaluación sensorial de manzanas frescas cortadas.

Muestra	C _{YM} (%)	C _{ÁC} (%)	C _{ÁA} (%)	Apariencia general	Pardeamiento
T0 (MP)	-	-	-	7,6	1,7
T1	0	0	0	8,0	2,5
T2	4	0	0	1,5	9,0
T3	2	0	0	2,5	7,7
T4	1	0	0	5,5	3,4
T5	0	1	1	9,0	0,5
T6	2	1	1	8,9	0,5
T7	1	1	1	8,6	1,0

3.3.2.3. Análisis de los resultados obtenidos en los ensayos preliminares

De acuerdo a los resultados obtenidos, las manzanas tratadas con las siguientes soluciones;

T5: 1% ÁC + 1% ÁA

T6: 2% YM + 1% ÁC + 1% ÁA

T7: 1% YM + 1% ÁC + 1% ÁA

Presentaron menor desarrollo de pardeamiento, mayor contenido de polifenoles, mayor capacidad antioxidante y mejor apariencia general que el resto de las soluciones ensayadas y la materia prima.

La aplicación de un extracto de yerba mate en combinación con ácido cítrico y ascórbico a manzanas mínimamente procesadas retarda el pardeamiento enzimático sin detrimento de su

calidad sensorial, aportando compuestos con actividad antioxidante con potencial beneficio para la salud. Considerando que la aplicación de yerba mate junto con ácido cítrico y ascórbico podría ser un buen método antioxidante para manzanas frescas cortadas que permita reducir las concentraciones de estos ácidos utilizadas habitualmente, se propone determinar las concentraciones óptimas de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico a través de un diseño de superficie de respuesta.

Por lo tanto, considerando los resultados preliminares obtenidos, los límites del dominio experimental seleccionados son: 0 a 2% para YM y 0 a 1% para ácido cítrico y ascórbico. Estos niveles permitirían inhibir el desarrollo de pardeamiento enzimático aportando compuestos bioactivos a las manzanas, sin incrementar las concentraciones habitualmente utilizadas de compuestos sintéticos.

3.3.3. Diseño experimental

Se estudió el efecto de la aplicación de tratamientos con diferentes concentraciones de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico, sobre la calidad de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas. Para ello se realizaron las experiencias siguiendo un diseño experimental de Box-Behnken (Box y Behnken, 1960) con tres factores en tres niveles (13 corridas y 2 repeticiones en el punto central), y se modelaron el pH, actividad antioxidante, diferencias de color y calidad sensorial de las manzanas tratadas, en función de las concentraciones de YM, ÁC y ÁA. Posteriormente, se determinaron las concentraciones óptimas de la solución acuosa de ÁA, ÁC y YM que permiten reducir el pardeamiento enzimático e incrementar el potencial saludable sin alterar la calidad sensorial de manzanas frescas cortadas. Los límites del dominio experimental de los distintos factores estudiados fueron obtenidos de estudios preliminares (sección 3.3.2.).

3.3.3.1. Efecto de los componentes de la solución antioxidante sobre la calidad.

◆ Efecto sobre el pH y la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.

En la Tabla 3.45 se presentan los resultados experimentales correspondientes a las características fisicoquímicas (pH) y de potencial saludable (medido como capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP), de las manzanas mínimamente procesadas tratadas con soluciones antioxidantes, según el diseño de Box-Behnken utilizado.

En primer lugar, se comprobó la idoneidad de los modelos elegidos, con los tests de diagnósticos basados en los residuos para cada una de las respuestas evaluadas. Los tres tests

de diagnóstico (no mostrados) para cada respuesta cumplen adecuadamente con las suposiciones de homogeneidad de la varianza, independencia de los errores y normalidad de los errores. Como no existen transgresiones severas podemos aplicar el ANOVA para los modelos propuestos para cada una de las respuestas estudiadas.

Tabla 3.45. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para pH y actividad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ fresca cortadas.

Nº ensayo	Variables Independientes			pH	Respuestas	
	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)		AEAC (mg ÁAc/100g)	FRAP (µmoles Fe/100g)
1	2,0	1,0	0,5	3,31	120,43	370,24
2	2,0	0,5	1,0	3,38	141,09	434,46
3	0,0	1,0	0,5	3,41	92,42	405,57
4	0,0	0,0	0,5	3,35	78,35	382,03
5	2,0	0,5	0,0	3,41	83,06	252,62
6	1,0	0,0	1,0	3,48	92,02	382,82
7	1,0	0,5	0,5	3,36	90,00	379,61
8	1,0	1,0	1,0	3,35	85,31	400,27
9	1,0	0,0	0,0	3,52	56,51	294,05
10	2,0	0,0	0,5	3,37	103,46	324,54
11	0,0	0,5	0,0	3,29	44,51	247,00
12	0,0	0,5	1,0	3,22	73,65	384,84
13	1,0	0,5	0,5	3,32	100,01	345,69
14	1,0	1,0	0,0	3,26	98,19	263,82
15	1,0	0,5	0,5	3,32	105,54	326,75

En la Tabla 3.46 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas pH, AEAC y FRAP.

Tabla 3.46. Análisis de varianza de los resultados experimentales de pH y actividad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados		
		pH	AEAC	FRAP
X ₁ (C _{YM})	1	0,0052	3164,44*	456,40
X ₂ (C _{ÁC})	1	0,019*	544,44	141,23
X ₃ (C _{ÁA})	1	0,00040	1506,94*	37114,3*
X ₁ ²	1	0,0024	6,83	69,61
X ₁ .X ₂	1	0,0034	2,10	0,12
X ₁ .X ₃	1	0,00040	208,76	483,94
X ₂ ²	1	0,010*	5,39	358,76
X ₂ .X ₃	1	0,0042	585,03	568,28
X ₃ ²	1	0,00096	754,74	2363,74
Falta de ajuste	3	0,038*	872,04	5203,96
Error puro	2	0,00099	124,04	1434,48
Coef. Determinación (R ²)		55%	87%	86%

G.L.: grados de libertad; * p<0,05; ** p<0,01 *** p<0,001.

En la Tabla 3.46 se observa que el único factor que incide significativamente en el pH es la concentración de ácido cítrico. De acuerdo a los resultados obtenidos, un aumento en la concentración de ácido cítrico en la solución, produce una reducción en el valor del pH natural de la fruta. Piagentini (1999) estudió el efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico sobre el pH de espinaca fresca cortada y encontró que el efecto del ácido cítrico sobre la disminución del pH era mucho más significativo que el efecto producido por el aumento de la concentración de ácido ascórbico. La falta de ajuste para el modelo correspondiente al pH es significativa (p<0,05), lo que indica que el modelo propuesto no representa adecuadamente los datos experimentales.

En cuanto al modelo correspondiente a la capacidad antioxidante de las manzanas tratadas determinada por el método del radical DPPH*, no presentó falta de ajuste (p=0,18), y el estadístico R² indica que el modelo propuesto explica el 87% de la variabilidad de los datos de AEAC. De acuerdo a los resultados obtenidos, la capacidad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* aumenta significativa y linealmente con el aumento de la concentración de yerba mate y de ácido ascórbico (Tabla 3.46 y Figura 3.54).

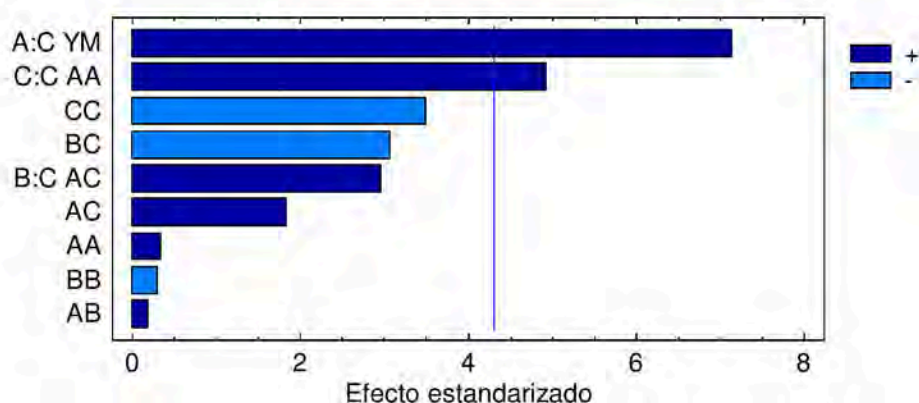


Figura 3.54. Diagrama de Pareto estandarizado para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método del radical DPPH*.

Partiendo del modelo polinomial de segundo orden completo (Ecuación 3.21) se obtuvo el modelo reducido, que con el menor número de variables mejor explica la variable dependiente o la respuesta capacidad antioxidante por el método del radical DPPH*, aplicando el proceso “stepwise” o de “paso a paso” (Ecuación 3.22)

$$\text{AEAC (mg } \dot{\text{A}}\text{Ae/100g)} = 38,36 + 9,22.C_{YM} + 44,07.C_{\dot{\text{A}}\text{C}} + 94,38.C_{\dot{\text{A}}\text{A}} + 1,36.C_{YM}^2 - 4,83.C_{\dot{\text{A}}\text{C}}^2 - 57,19.C_{\dot{\text{A}}\text{A}}^2 - 1,45.C_{YM}.C_{\dot{\text{A}}\text{C}} + 14,45.C_{YM}.C_{\dot{\text{A}}\text{A}} - 48,37.C_{\dot{\text{A}}\text{C}}.C_{\dot{\text{A}}\text{A}} \quad \text{Ecuación 3.21}$$

$$\text{AEAC (mg } \dot{\text{A}}\text{Ae/100g)} = 57,35 + 19,89.C_{YM} + 27,44.C_{\dot{\text{A}}\text{A}} \quad \text{Ecuación 3.22}$$

La Figura 3.55 permite observar claramente que un incremento tanto en la concentración de YM como de $\dot{\text{A}}\text{A}$, se traduce en un aumento de la capacidad antioxidante medida por DPPH*.

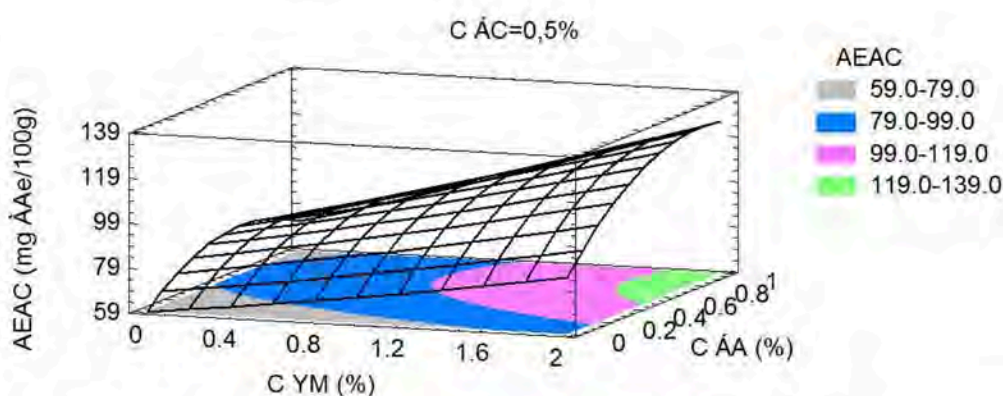


Figura 3.55. Superficie de respuesta obtenida para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, determinada por el método del radical DPPH*. $C_{\dot{\text{A}}\text{C}} = 0,5\%$.

El modelo obtenido para la capacidad antioxidante medida por el método de FRAP explicó el 86% de la variabilidad de los datos y fue adecuado para describir los datos observados

($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,31$). De acuerdo al modelo, la capacidad antioxidante medida por FRAP depende únicamente, y en forma lineal, del factor X_3 ($C_{\hat{A}\hat{A}}$). Esto puede observarse gráficamente tanto en el diagrama de Pareto (Figura 3.56) como en la gráfica de efectos principales (Figura 3.57).

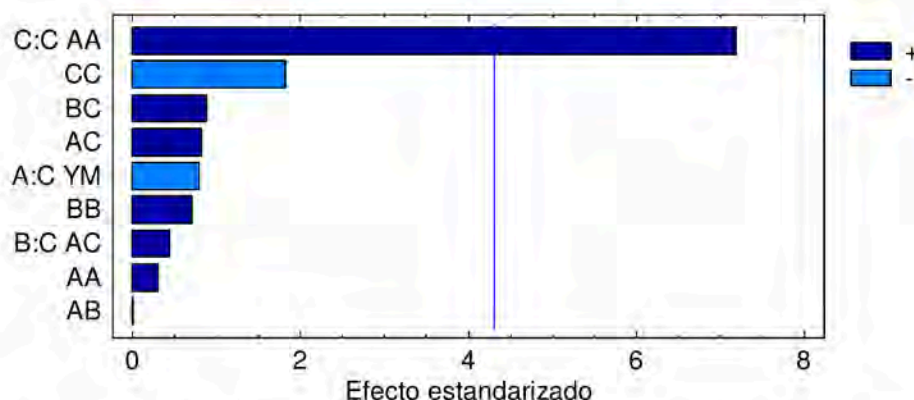


Figura 3.56. Diagrama de Pareto estandarizado para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método de FRAP.

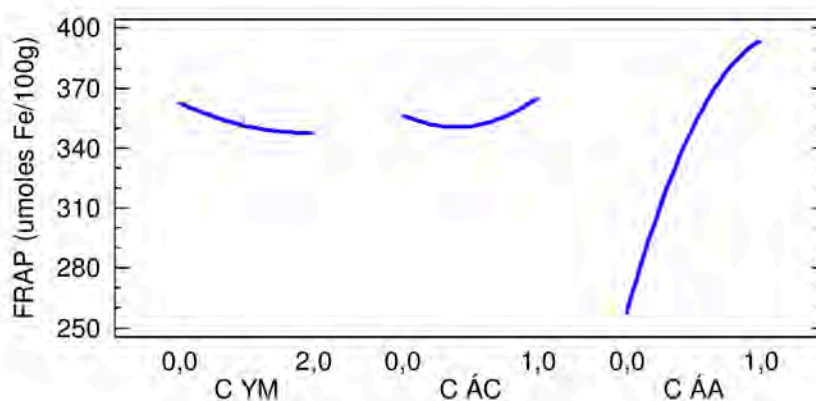


Figura 3.57. Gráfica de efectos principales para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, medida por el método de FRAP.

Los modelos completo y reducido aplicando el proceso “stepwise” se presentan en las Ecuaciones 3.23 y 3.24.

$$\text{FRAP } (\mu\text{moles Fe}/100\text{g}) = 297,57 - 27,06.C_{YM} - 54,52.C_{\hat{A}\hat{C}} + 191,60.C_{\hat{A}\hat{A}} + 4,34.C_{YM}^2 + 39,43.C_{\hat{A}\hat{C}}^2 - 101,21.C_{\hat{A}\hat{A}}^2 - 0,34.C_{YM}.C_{\hat{A}\hat{C}} + 22,00.C_{YM}.C_{\hat{A}\hat{A}} + 47,68.C_{\hat{A}\hat{C}}.C_{\hat{A}\hat{A}} \quad \text{Ecuación 3.23}$$

$$\text{FRAP } (\mu\text{moles Fe}/100\text{g}) = 136,22 + 276,65.C_{\hat{A}\hat{A}} \quad \text{Ecuación 3.24}$$

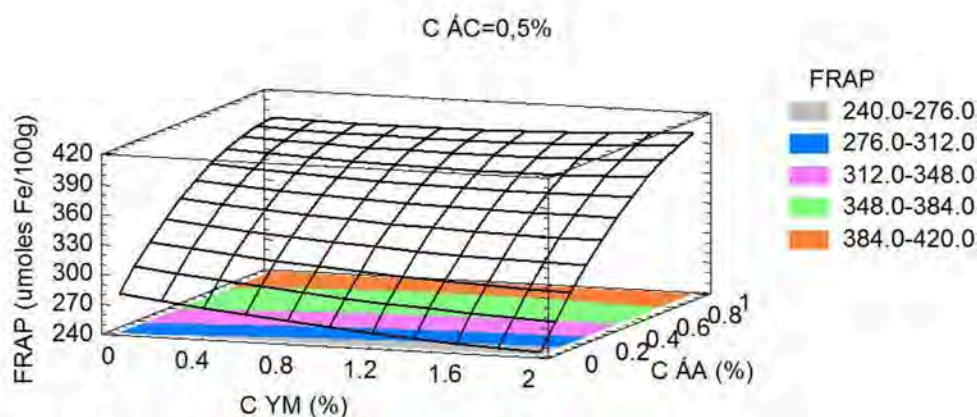


Figura 3.58. Superficie de respuesta obtenida para la capacidad antioxidante de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes, determinada por el método de FRAP. $C_{\text{ÁC}} = 0,5\%$.

En la superficie de respuesta correspondiente a la capacidad antioxidante por el método de FRAP (Figura 3.58) se puede observar que ésta aumenta al aumentar la concentración de ácido ascórbico, mientras que se mantiene casi constante al variar la concentración de YM.

♦ **Efecto sobre los cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.**

En la Tabla 3.47 se presentan los resultados correspondientes a los cambios en los parámetros instrumentales de color obtenidos para las experiencias realizadas siguiendo el diseño de Box-Behnken.

El análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios de color medidos instrumentalmente se presenta en la Tabla 3.48.

Tabla 3.47. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para los cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Granny Smith’ fresca cortadas.

Nº ensayo	Variables Independientes			Respuestas			
	CYM (%)	CÁC (%)	CÁA (%)	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔC_{ab}^*
1	2	1	0,5	-0,16	0,00	-1,69	-1,67
2	2	0,5	1	0,21	-0,20	-0,34	-0,32
3	0	1	0,5	-0,15	-0,01	-0,01	-0,01
4	0	0	0,5	1,31	-0,63	-2,20	-2,18
5	2	0,5	0	1,87	-1,97	-2,61	-2,63
6	1	0	1	1,96	-1,69	-1,94	-1,95
7	1	0,5	0,5	0,93	-0,29	0,01	0,02
8	1	1	1	0,05	0,35	1,38	1,34
9	1	0	0	2,80	-2,01	-4,38	-4,43
10	2	0	0,5	1,92	-1,89	-3,03	-2,99
11	0	0,5	0	2,33	-1,96	-3,91	-3,84
12	0	0,5	1	0,02	-0,26	-0,02	0,00
13	1	0,5	0,5	0,12	-0,02	-0,19	-0,19
14	1	1	0	0,67	-0,47	-1,33	-1,32
15	1	0,5	0,5	0,50	-0,12	-0,33	-0,32

$\Delta X_i = X_{0min} - X_{240min}$

Tanto la concentración de AC como la de AA influyeron significativamente en el cambio de luminosidad (ΔL^*) de las manzanas (Figura 3.59). Al aumentar su concentración, la disminución de luminosidad (oscurecimiento) que se produce luego del procesamiento es menor (Figuras 3.60 y 3.61). El modelo polinomial completo de segundo orden explica el 91% de la variabilidad de los datos y ajusta satisfactoriamente la respuesta ΔL^* ($p_{falta\ de\ ajuste} = 0,37$).

Tabla 3.48. Análisis de varianza de los resultados experimentales de los cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados			
		ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔC_{ab}^*
X_1 (C_{YM})	1	0,014	0,18	0,29	0,31
X_2 (C_{AC})	1	7,21*	4,64**	12,25**	12,23**
X_3 (C_{AA})	1	3,70*	2,68**	15,99**	15,93**
X_1^2	1	0,0020	0,37*	2,71*	2,53*
$X_1.X_2$	1	0,093	0,40*	0,18	0,18
$X_1.X_3$	1	0,11	0,0016	0,66*	0,58*
X_2^2	1	0,21	0,11	1,84*	1,92*
$X_2.X_3$	1	0,011	0,063	0,018	0,0081
X_3^2	1	1,40	1,50*	1,77*	1,84*
Falta de ajuste	3	0,92	1,03	2,66*	2,60*
Error puro	2	0,33	0,036	0,058	0,059
Coef. Determinación (R^2)		91%	90%	93%	93%

G.L.: grados de libertad; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

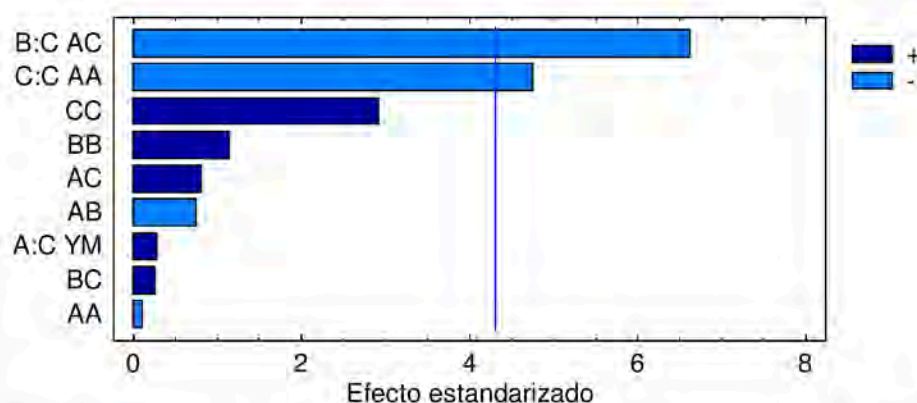


Figura 3.59. Diagrama de Pareto estandarizado para ΔL^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante.

Los modelos completo y reducido se presentan en las Ecuaciones 3.25 y 3.26, respectivamente, y la superficie de respuesta en la Figura 3.61.

$$\Delta L^* = 3,00 + 0,077.C_{YM} - 2,66.C_{AC} - 4,26.C_{AA} - 0,024.C_{YM}^2 + 0,96.C_{AC}^2 + 2,46.C_{AA}^2 - 0,30.C_{YM}.C_{AC} + 0,33.C_{YM}.C_{AA} + 0,21.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.25}$$

$$\Delta L^* = 2,87 - 3,76.C_{AC} - 1,90.C_{AA} + 2,40.C_{AA}^2 \quad \text{Ecuación 3.26}$$

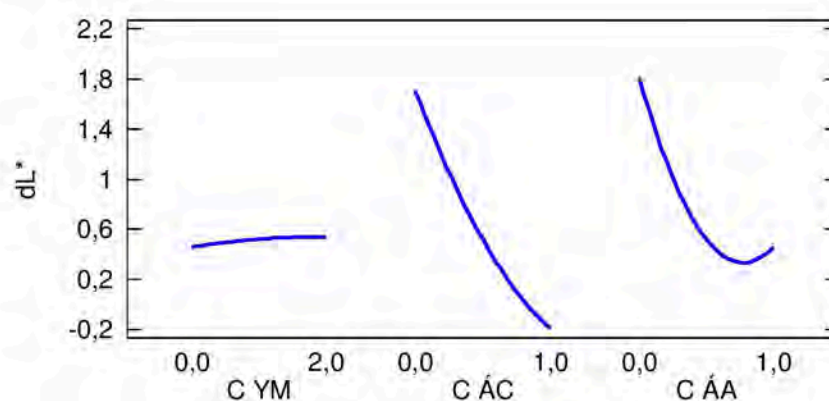


Figura 3.60. Gráfica de efectos principales para ΔL^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

De acuerdo al modelo propuesto, reducido por el proceso de stepwise, ΔL^* es independiente de C_{YM} y presenta una relación lineal y cuadrática con las concentraciones de ácido cítrico y ascórbico, respectivamente (Ecuación 3.26).

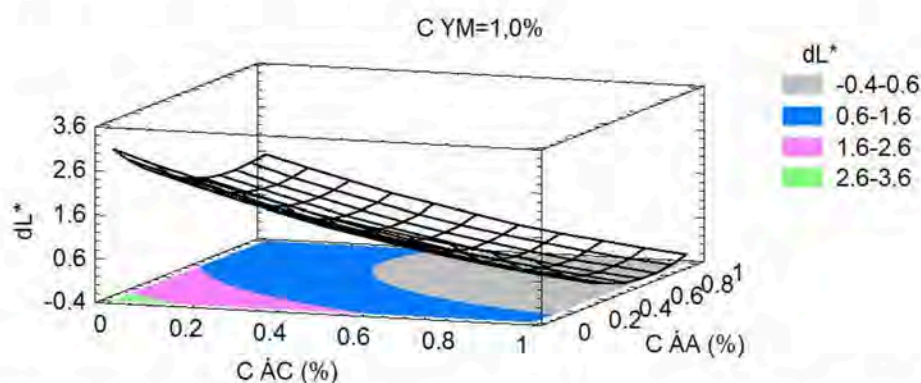


Figura 3.61. Superficie de respuesta obtenida para ΔL^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{YM} = 1,0\%$.

La Figura 3.61 muestra gráficamente que la diferencia entre el valor inicial y luego de 240 min de procesadas de la luminosidad de las muestras, presenta un mínimo (valores de L^* de las muestras después de 4 horas de procesadas muy similares a los iniciales) a valores intermedios de la concentración de ácido ascórbico (0,6-0,7%) y altos de la de ácido cítrico.

En cuanto Δa^* , se obtuvo un modelo sin falta de ajuste ($p > 0,05$) que explicó el 90% de la variabilidad de los datos (Tabla 3.48). El diagrama de Pareto correspondiente (Figura 3.62) permite observar rápidamente que las principales fuentes de variación significativas son: C_{AC} , C_{AA} , C_{YM}^2 , C_{AA}^2 y la interacción entre C_{YM} y C_{AC} .

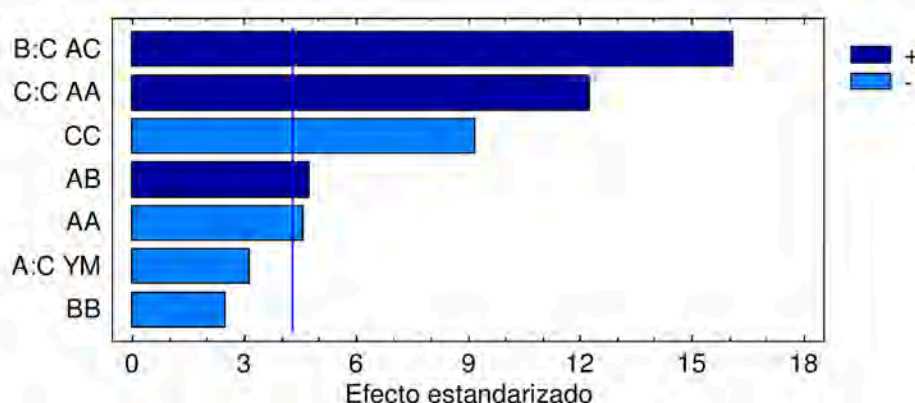


Figura 3.62. Diagrama de Pareto estandarizado para Δa^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

La gráfica de efectos principales (Figura 3.63) permite ver la dependencia cuadrática de Δa^* con las concentraciones de YM y ÁA, y lineal con la de ÁC. El valor de a^* generalmente aumenta luego del procesamiento (disminuyendo el tono levemente verde de la pulpa de esta variedad de manzanas o desarrollando tonos rojizos). La diferencia entre el valor inicial y luego de 240 min de procesada del parámetro de color a^* de las muestras disminuye (es más negativo) a medida que las concentraciones de YM, ÁA y ÁC disminuyen, dentro de un cierto rango. Pero en el caso de YM y ÁA, existe una concentración a la cual se produce la mínima diferencia entre los valores de a^* inicial y luego de 240 min del procesamiento (Figura 3.63).

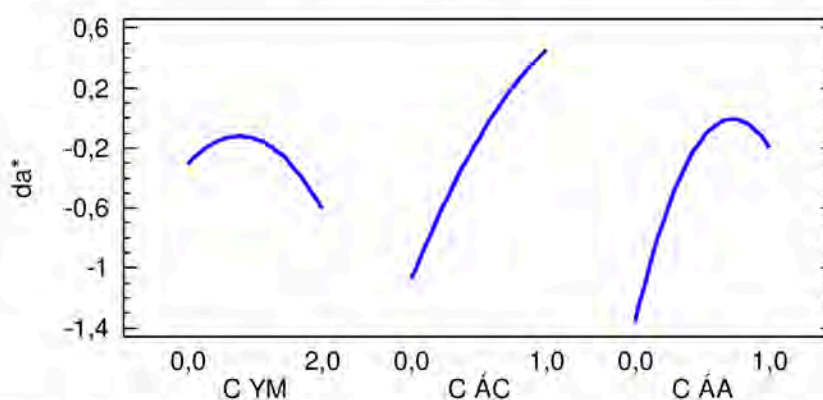


Figura 3.63. Gráfica de efectos principales para Δa^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

La interacción de las concentraciones de yerba mate y ácido cítrico es significativa. Como se observa en la Figura 3.64, el efecto de la concentración de YM sobre Δa^* depende de $C_{\text{ÁC}}$. A altos niveles de ácido cítrico, el efecto sobre Δa^* no depende significativamente de la C_{YM} mientras que a bajas concentraciones de ÁC, Δa^* disminuye (se hace más negativo) conforme C_{YM} aumenta, indicando un mayor valor de $a^*_{240\text{min}}$ de las muestras así tratadas.

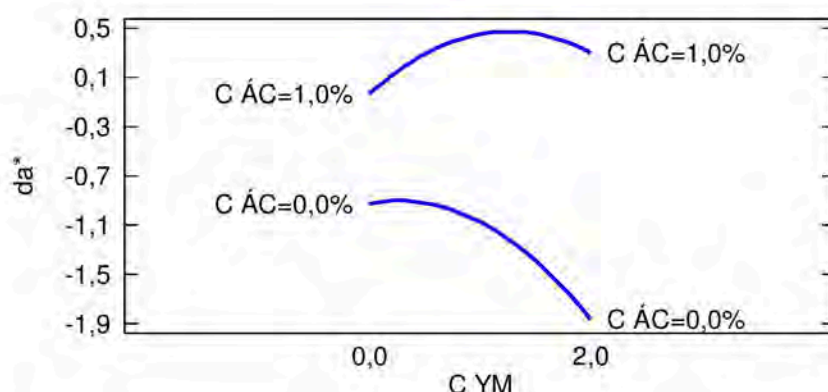


Figura 3.64. Gráfica de interacciones para Δa^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

El modelo (Ecuación 3.27) fue reducido, obteniéndose el que se presenta en la Ecuación 3.28.

$$\Delta a^* = -2,00 + 0,15.C_{YM} + 1,33.C_{AC} + 3,42.C_{AA} - 0,32.C_{YM}^2 + 0,69.C_{AC}^2 - 2,56.C_{AA} + 0,64.C_{YM}.C_{AC} + 0,039.C_{YM}.C_{AA} + 0,50.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.27}$$

$$\Delta a^* = -2,05 + 0,14.C_{YM} + 0,89.C_{AC} + 3,66.C_{AA} - 0,31.C_{YM}^2 - 2,50.C_{AA} + 0,64.C_{YM}.C_{AC} \quad \text{Ecuación 3.28}$$

La superficie de respuesta para Δa^* se presenta en la Figura 3.65. La Figura 3.65(a) representa la superficie para bajos niveles de concentración de ácido cítrico y se observa claramente el descenso de Δa^* al aumentar C_{YM} (pérdida del tono verde o desarrollo de tonos rojizos luego de 240 min de procesadas las muestras), mientras que la Figura 3.65(b) representa la superficie para altos niveles de ácido cítrico y se observa cómo Δa^* permanece prácticamente constante a partir de una concentración de YM de 0,7-0,8%.

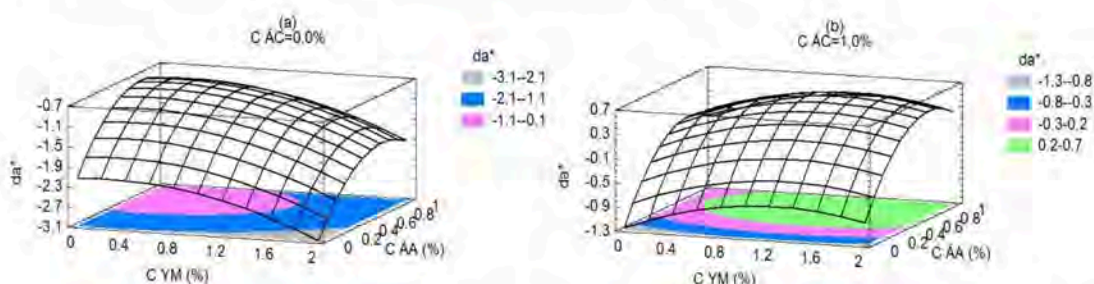


Figura 3.65. Superficie de respuesta obtenida para Δa^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. (a) $C_{AC} = 0,0\%$, (b) $C_{AC} = 1,0\%$.

Tanto para Δb^* como para ΔC_{ab}^* se obtuvo una dependencia cuadrática con las tres concentraciones evaluadas y una interacción significativa entre C_{YM} y C_{AA} (Tabla 3.48). Sin embargo, no se pudo ajustar el modelo para ninguna de las dos respuestas debido a que la falta

de ajuste fue significativa ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,032$ y $0,033$, para Δb^* y ΔC_{ab}^* , respectivamente). De todas maneras, y de acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 3.47) se puede observar que tanto b^* como C_{ab}^* aumentan después de 240 min del procesamiento, es decir, se incrementa la intensidad del color (indicador de desarrollo de pardeamiento), siendo este incremento, en general, menor a medida que aumentan las concentraciones de YM, AA y AC.

◆ **Efecto sobre los atributos sensoriales de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas.**

En la Tabla 3.49 se presentan los resultados experimentales correspondientes a las características sensoriales (pardeamiento, gusto ácido y off-flavors), de las manzanas mínimamente procesadas tratadas según el diseño de Box-Behnken utilizado.

Se realizó un ANOVA multifactorial sobre los atributos sensoriales: pardeamiento, gusto ácido y off-flavors. Los resultados se presentan en la Tabla 3.50.

Tabla 3.49. Resultados experimentales del diseño de Box-Behnken para pardeamiento, gusto ácido y off-flavors de manzanas 'Granny Smith' fresca cortadas.

Nº ensayo	Variables Independientes			Respuestas		
	C _{YM} (%)	C _{AC} (%)	C _{AA} (%)	Pardeamiento	Gusto ácido	Off-flavors
1	2,0	1,0	0,5	0,17	6,01	2,84
2	2,0	0,5	1,0	0,57	4,66	3,53
3	0,0	1,0	0,5	0,48	6,30	1,96
4	0,0	0,0	0,5	2,54	5,76	2,19
5	2,0	0,5	0,0	2,13	5,69	3,79
6	1,0	0,0	1,0	0,55	4,33	2,43
7	1,0	0,5	0,5	0,27	5,37	2,12
8	1,0	1,0	1,0	0,33	6,13	2,33
9	1,0	0,0	0,0	4,98	3,82	1,88
10	2,0	0,0	0,5	0,55	5,34	3,96
11	0,0	0,5	0,0	2,43	5,79	2,26
12	0,0	0,5	1,0	0,53	6,23	2,00
13	1,0	0,5	0,5	0,30	6,00	1,87
14	1,0	1,0	0,0	1,73	5,59	1,54
15	1,0	0,5	0,5	0,60	5,50	2,03

En la Tabla 3.50 se puede observar que para el pardeamiento, los términos C_{AA}^2 , C_{AA} y C_{AC} son muy significativos ($p < 0,01$), mientras que los términos C_{YM} , C_{AC}^2 , $C_{YM} \cdot C_{AC}$ y $C_{AC} \cdot C_{AA}$ son significativos ($p < 0,05$) (Figura 3.66). Por lo tanto, las tres concentraciones estudiadas así como sus interacciones influyen en el pardeamiento de las manzanas.

Tabla 3.50. Análisis de varianza de los resultados experimentales de pardeamiento, gusto ácido y off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados		
		Pardeamiento	Gusto ácido	Off-flavors
X ₁ (C _{YM})	1	0,82*	0,71	4,08**
X ₂ (C _{AC})	1	4,37**	2,86*	0,40*
X ₃ (C _{AA})	1	10,79**	0,026	0,084
X ₁ ²	1	0,0036	0,67	2,30**
X ₁ .X ₂	1	0,71*	0,0042	0,20
X ₁ .X ₃	1	0,029	0,54	0,0
X ₂ ²	1	0,97*	0,14	0,013
X ₂ .X ₃	1	2,30*	0,00022	0,014
X ₃ ²	1	3,65**	0,77	0,035
Falta de ajuste	3	1,35	1,15	0,56
Error puro	2	0,067	0,22	0,035
Coef. Determinación (R ²)		94%	81%	92%

G.L: grados de libertad; * p<0.05; ** p<0,01 *** p<0,001.

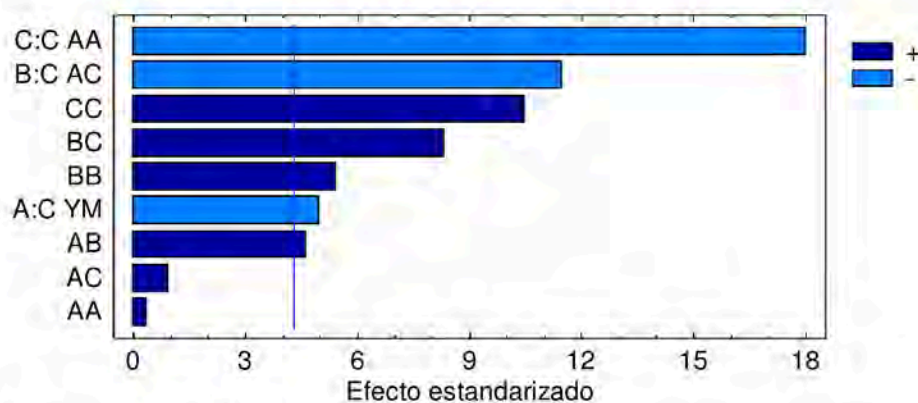


Figura 3.66. Diagrama de Pareto estandarizado para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

En la gráfica de efectos principales (Figura 3.67), puede observarse que el pardeamiento de las muestras se reduce a medida que aumenta la concentración de cada uno de los tres compuestos presentes en la solución antioxidante. Además, esta gráfica permite visualizar la dependencia cuadrática con las concentraciones de ácidos cítrico y ascórbico y lineal con la concentración de yerba mate, del pardeamiento de las manzanas tratadas.

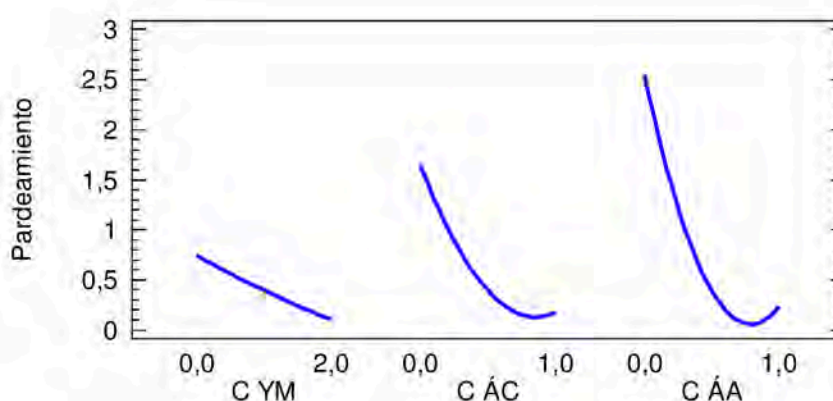


Figura 3.67. Gráfica de efectos principales para el pardeamiento de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

Como se mencionó anteriormente, las interacciones entre C_{YM} y $C_{\acute{A}C}$ y entre $C_{\acute{A}C}$ y $C_{\acute{A}A}$ también influyen significativamente en el pardeamiento de las manzanas tratadas. En la Figura 3.68 se observa que a bajas concentraciones de $\acute{A}C$ el pardeamiento disminuye conforme la concentración de YM aumenta, mientras que a altas concentraciones de $\acute{A}C$, el desarrollo de pardeamiento es muy bajo y similar para todo el rango de C_{YM} . Este resultado es similar al obtenido para Δa^* , donde se encontró que a bajas concentraciones de ácido cítrico Δa^* aumenta (asemejable a una disminución del pardeamiento) con la concentración de YM y a altas concentraciones de $\acute{A}C$ Δa^* era prácticamente independiente de la concentración de YM . Por otro lado, a bajos niveles de $\acute{A}A$, el pardeamiento desciende a medida que $C_{\acute{A}C}$ aumenta y a niveles altos de $\acute{A}A$ se observa un mínimo de pardeamiento a concentraciones intermedias de ácido cítrico.

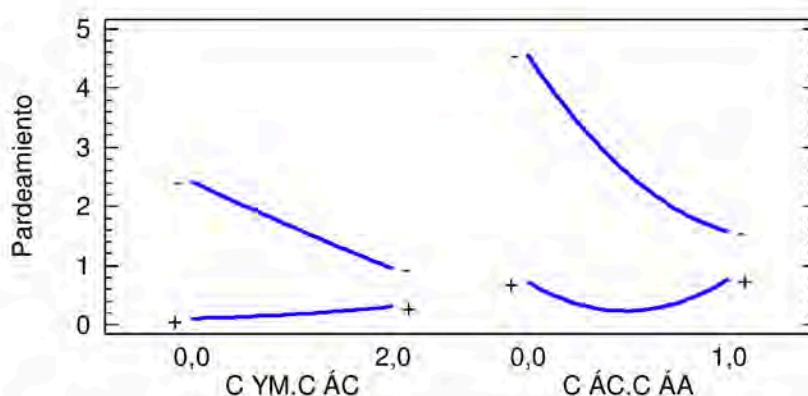


Figura 3.68. Gráfica de interacciones para el pardeamiento de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

El modelo polinomial completo de segundo orden fue adecuado para describir los valores de pardeamiento observados ($p_{\text{falta de ajuste}} = 0,069$) y explicó el 94% de la variabilidad

de los datos experimentales. Aplicando el proceso “stepwise” se redujo el modelo completo (Ecuación 3.29), obteniéndose el modelo reducido que se presenta en la Ecuación 3.30.

$$\text{Pardeamiento} = 5,41 - 0,89.C_{YM} - 5,89.C_{AC} - 7,98.C_{AA} + 0,031.C_{YM}^2 + 2,06.C_{AC}^2 + 3,98.C_{AA} + 0,84.C_{YM}.C_{AC} + 0,17.C_{YM}.C_{AA} + 3,03.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.29}$$

$$\text{Pardeamiento} = 5,31 - 0,74.C_{YM} - 5,88.C_{AC} - 7,80.C_{AA} + 2,05.C_{AC}^2 + 3,97.C_{AA} + 0,84.C_{YM}.C_{AC} + 3,03.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.30}$$

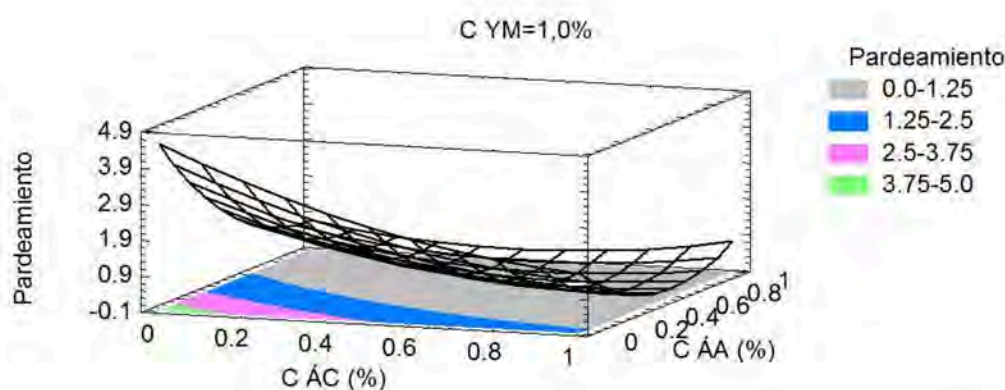


Figura 3.69. Superficie de respuesta obtenida para el pardeamiento de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{YM} = 1,0\%$.

Tanto la Tabla 3.50 como la Figura 3.70 muestran que la única fuente de variación significativa en el gusto ácido es la concentración de ácido cítrico. A pesar de no haber podido ajustar el modelo para el pH, los resultados obtenidos para esa respuesta coinciden en que es el ácido cítrico el único que influye en la acidez de las manzanas tratadas. El modelo ajustado para el atributo sensorial gusto ácido no presentó falta de ajuste ($p = 0,23$) y explicó el 81% de la variabilidad de los resultados experimentales.

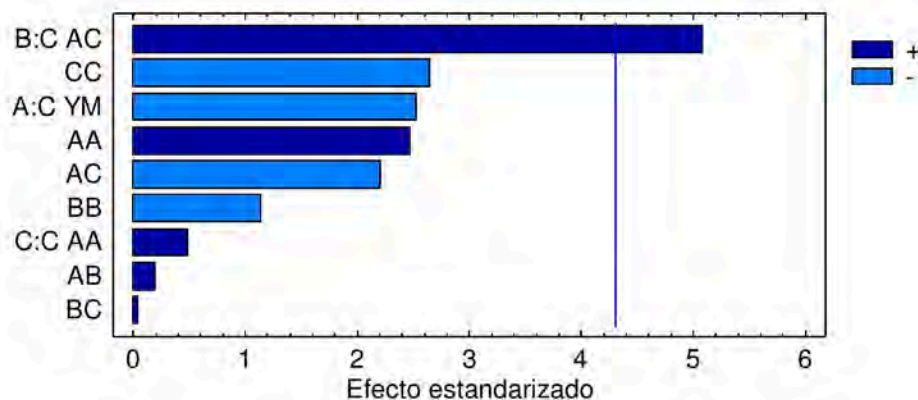


Figura 3.70. Diagrama de Pareto estandarizado para el gusto ácido de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

La Figura 3.71 representa la superficie de respuesta obtenida para el gusto ácido.

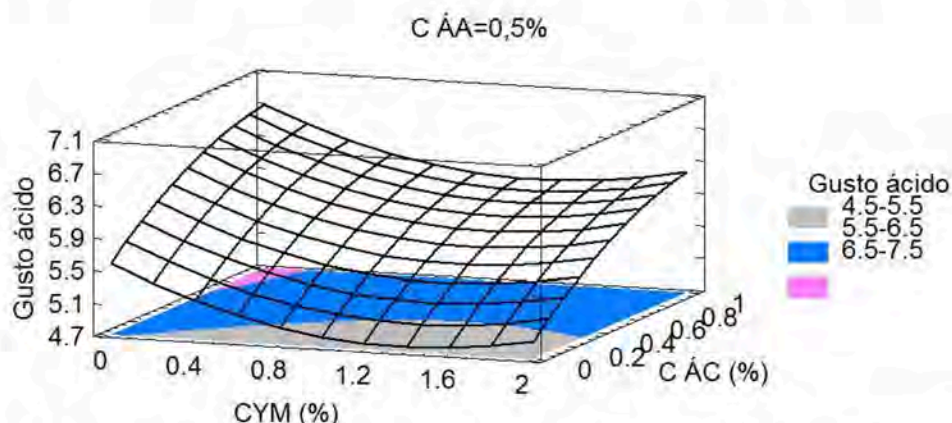


Figura 3.71. Superficie de respuesta obtenida para el gusto ácido de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{AA} = 0,5\%$.

El modelo obtenido (Ecuación 3.31) fue reducido y se presenta en la Ecuación 3.32.

$$\text{Gusto ácido} = 4,71 - 0,82.C_{YM} + 1,91.C_{AC} + 2,67.C_{AA} + 0,43.C_{YM}^2 - 0,79.C_{AC}^2 - 1,83.C_{AA} + 0,065.C_{YM}.C_{AC} - 0,74.C_{YM}.C_{AA} + 0,030.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.31}$$

$$\text{Gusto ácido} = 4,90 + 1,20.C_{AC} \quad \text{Ecuación 3.32}$$

Para finalizar con los atributos sensoriales, se evaluaron los resultados del análisis de varianza realizado para el modelo propuesto para el desarrollo de off-flavors (Tabla 3.50). Éstos indican que los sabores extraños varían cuadráticamente con la concentración de yerba mate y linealmente con la de ácido cítrico. El diagrama de Pareto (Figura 3.72) y la gráfica de efectos principales (Figura 3.73) permiten observar la dependencia cuadrática positiva con la yerba mate y lineal negativa con el ácido cítrico. Estos resultados sugieren que un incremento en C_{YM} repercute en la aparición de off-flavors, mientras que el agregado de ácido cítrico genera una disminución de los mismos, ya sea porque el ácido cítrico impide la generación de off-flavors o porque el gusto ácido asociado al ácido cítrico impide su detección.

El modelo propuesto no presentó falta de ajuste ($p = 0,081$) y logró explicar el 92% de la variabilidad del atributo off-flavors. Los modelos completo y reducido se presentan en las Ecuaciones 3.33 y 3.34, respectivamente,

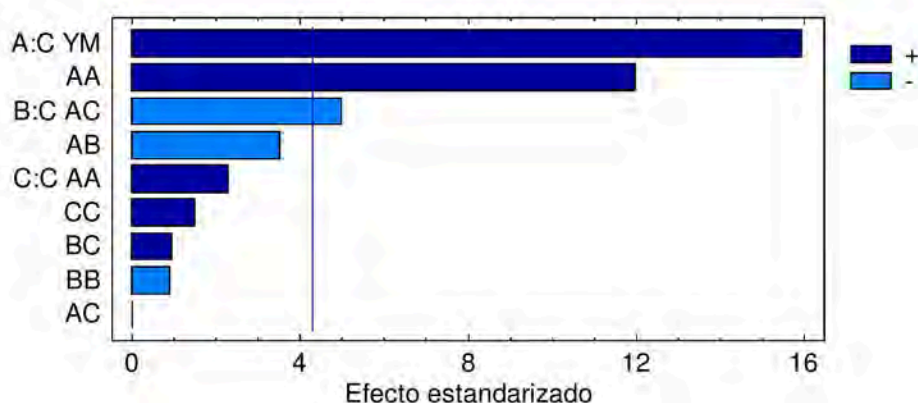


Figura 3.72. Diagrama de Pareto estandarizado para off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

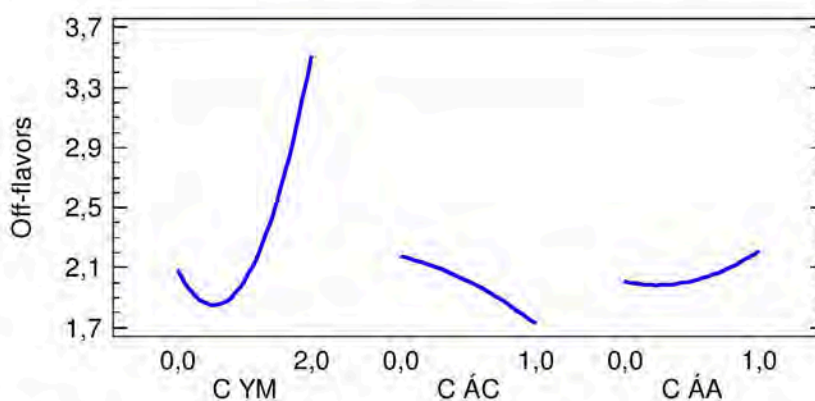


Figura 3.73. Gráfica de efectos principales para off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes.

$$\text{Off-flavors} = 2,08 - 0,64.C_{YM} + 0,12.C_{AC} - 0,31.C_{AA} + 0,79.C_{YM}^2 - 0,24.C_{AC}^2 + 0,39.C_{AA} - 0,44.C_{YM}.C_{AC} + 0,00.C_{YM}.C_{AA} + 0,24.C_{AC}.C_{AA} \quad \text{Ecuación 3.33}$$

$$\text{Off-flavors} = 2,10 - 0,86.C_{YM} + 0,79.C_{YM}^2 \quad \text{Ecuación 3.34}$$

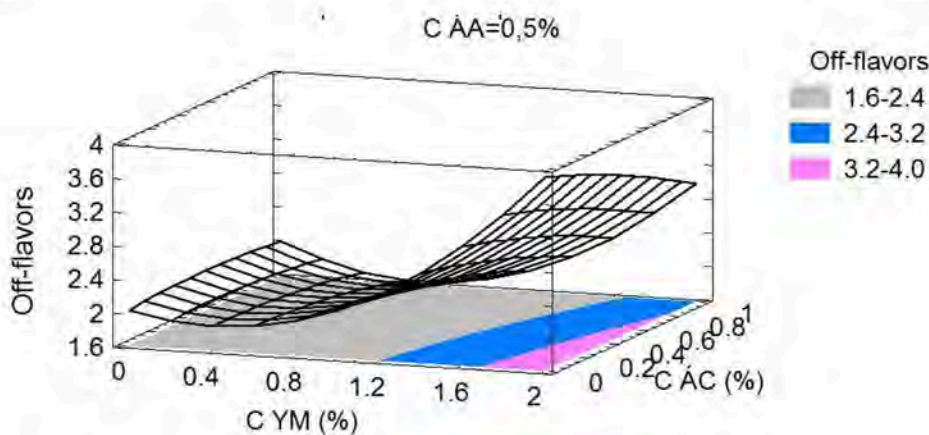


Figura 3.74. Superficie de respuesta obtenida para los off-flavors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes. $C_{AA} = 0,5\%$.

3.3.3.2. Determinación de las concentraciones óptimas

Para la determinación de las concentraciones óptimas de YM, AC y AA, se utilizó la metodología de optimización de respuestas múltiples, tal como se indicó en la sección 2.3.3.3 del capítulo Materiales y Métodos.

De todas las respuestas evaluadas, para la optimización se seleccionaron aquellas que mejor permitían determinar qué concentraciones de YM, AC y AA reducían la pérdida de calidad visual de las manzanas, incrementando su potencial saludable sin incidir negativamente en el sabor. Las respuestas utilizadas para la optimización fueron: ΔL^* , Δa^* , pardeamiento, gusto ácido, off-flavors y actividad antioxidante determinada por los métodos del radical DPPH* y FRAP.

ΔL^* , Δa^* y pardeamiento se seleccionaron por ser medidas representativas de la calidad visual, el gusto ácido porque la aplicación de ácidos puede vincularse a un valor alto e indeseable de este parámetro. Los off-flavors se eligieron porque la yerba mate podría traer aparejada su aparición, y la actividad antioxidante por estar asociada con beneficios potenciales en la salud del consumidor.

Para determinar las concentraciones óptimas de YM, AC y AA en la solución antioxidante es necesario establecer, para cada una de las respuestas seleccionadas, cuál es el criterio elegido (maximizarla, minimizarla o ajustarla a un valor fijo), y determinar qué peso relativo se le va a otorgar a cada una de ellas. Se decidió darle mayor impacto a aquellas respuestas determinantes de la calidad visual (ΔL^* , Δa^* , pardeamiento), por ser una limitante de la vida útil de las manzanas frescas cortadas, y a los off-flavors, porque se observó en el modelo ajustado para esta respuesta que el agregado de YM podría incidir en la aparición de sabores indeseables. El gusto ácido fue incluido en la optimización pero con un menor impacto, porque si bien el agregado de AC puede potenciar este atributo, la materia prima utilizada se caracteriza por su acidez. De igual manera se consideraron las respuestas de actividad antioxidante determinada por ambos métodos porque, si bien el incremento del potencial saludable era uno de los objetivos de la aplicación de esta solución, el fin primario debe ser la obtención de un producto aceptable para el consumidor (Tabla 3.51). A continuación se establece el criterio utilizado en la optimización de respuestas múltiples, para cada una de las respuestas seleccionadas:

a) ΔL^*

Valores más altos de L^* indican mayor claridad de la muestra. Un resultado positivo de ΔL^* ($L^*_{0\text{min}} - L^*_{240\text{min}}$) indica que $L^*_{240\text{min}}$ es menor que $L^*_{0\text{min}}$ y, por lo tanto, las manzanas se oscurecieron luego de 240 min de ser procesadas. Es deseable minimizar el oscurecimiento de las manzanas (indicador de pardeamiento) y por lo tanto el objetivo fijado es minimizar esta respuesta.

b) Δa^*

Valores negativos de a^* indican tonos verdes y valores positivos de a^* tonos rojos. Las manzanas ‘Granny Smith’ se caracterizan por presentar tonos verdosos en la pulpa ($a^* < 0$) y su pardeamiento se asocia a un incremento en los valores de a^* , hasta valores que indican tonos más rojizos (Piagentini et al., 2012). El objetivo es que durante el transcurso del tiempo los valores de a^* se mantengan similares a sus valores iniciales o aumenten lo menos posible. Partiendo de un valor de a^* negativo (por ejemplo $a^*_{0\text{min}} = -2$), luego de los 240min puede ocurrir que la muestra desarrolle pardeamiento, entonces el valor de a^* puede pasar a valores positivos (tonos rojos) (por ejemplo $a^*_{240\text{min}} = 1$), obteniéndose un valor de Δa^* negativo ($\Delta a^* = -3$). Otra posibilidad es que luego de 240min la muestra disminuye el tono verde inicial pero sin alcanzar valores de a^* positivos (que indicarían desarrollo de tonos rojizos), (por ejemplo $a^*_{240\text{min}} = -1$) dando Δa^* negativo ($\Delta a^* = -1$) pero menor al que se obtuvo en el caso de desarrollo de tonos rojizos cuando $a^*_{240\text{min}} > 0$. Por último, si luego de 240min de procesada, la muestra tiene un valor de a^* menor al inicial (aún más verde), por ejemplo $a^*_{240\text{min}} = -3$, el valor que se obtiene es $\Delta a^* = 1$, un valor positivo y mayor que los obtenidos en las otras dos situaciones hipotéticas. En resumen, como se busca disminuir la aparición de tonos rojizos indicadores de desarrollo de pardeamiento, el objetivo o criterio fijado es maximizar Δa^* .

c) Pardeamiento

El objetivo es minimizar el desarrollo de pardeamiento enzimático, uno de los principales factores de pérdida de calidad de manzanas frescas cortadas.

d) Gusto ácido

Las manzanas ‘Granny Smith’ son naturalmente ácidas (Watkins et al., 2004), sin embargo, el agregado de ácido cítrico puede aumentar la intensidad de este atributo hasta niveles indeseables. Por lo tanto, el objetivo es disminuir el gusto ácido percibido por los evaluadores.

e) **Off-flavors**

La aplicación de un tratamiento químico puede incidir negativamente en el sabor de las manzanas, por aparición de sabores extraños u off-flavors. Es deseable, por lo tanto, minimizar este atributo para no perjudicar la calidad sensorial del producto.

f) **Actividad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP.**

La elección de la aplicación de infusiones de YM se basó en su considerable contenido de compuestos polifenólicos con alta capacidad antioxidante. Por lo tanto, se busca maximizar la actividad antioxidante de las manzanas tratadas, para de esta forma ofrecer un producto con potencial saludable incrementado.

En la Tabla 3.51 se presenta un resumen de las respuestas utilizadas para la optimización múltiple y los criterios usados en la función de deseabilidad de Derringer. También se presentan los valores mínimos y máximos obtenidos para las muestras tratadas según el diseño experimental de Box-Behnken.

Tabla 3.51. Mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizados en la función de deseabilidad de Derringer para la optimización múltiple.

Respuesta	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
ΔL^*	-0,16	2,80	Minimizar	5
Δa^*	-2,01	0,35	Maximizar	5
Pardeamiento	0,17	4,98	Minimizar	5
Gusto ácido	3,82	6,30	Minimizar	3
Off-flavors	1,54	3,96	Minimizar	5
AEAC (mg ÁA/100g)	44,51	141,09	Maximizar	3
FRAP (μ moles Fe/100g)	247,00	434,46	Maximizar	3

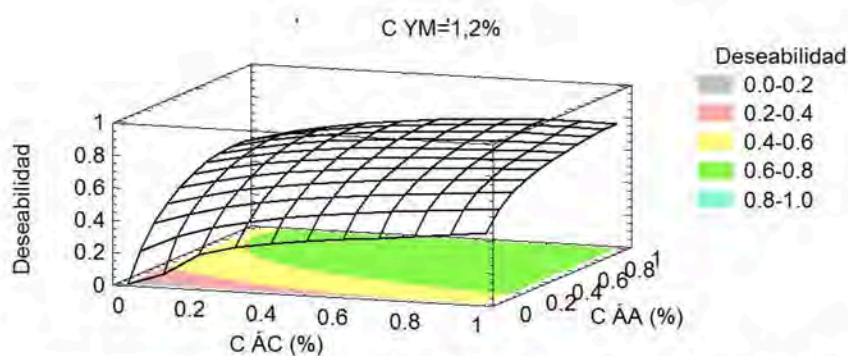
En la Figura 3.75 se representa gráficamente la superficie de respuesta obtenida para la deseabilidad (D).

El máximo valor de deseabilidad alcanzado y las concentraciones requeridas para alcanzar estas condiciones se muestran en la Tabla 3.52.

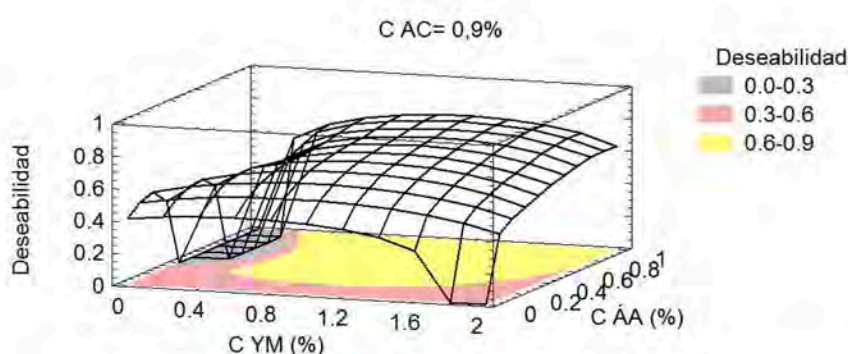
Tabla 3.52. Concentraciones óptimas de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico.

Deseabilidad = 0,78	
Factor	Concentración óptima (%)
C_{YM}	1,2
$C_{\acute{A}C}$	0,9
$C_{\acute{A}A}$	1,0

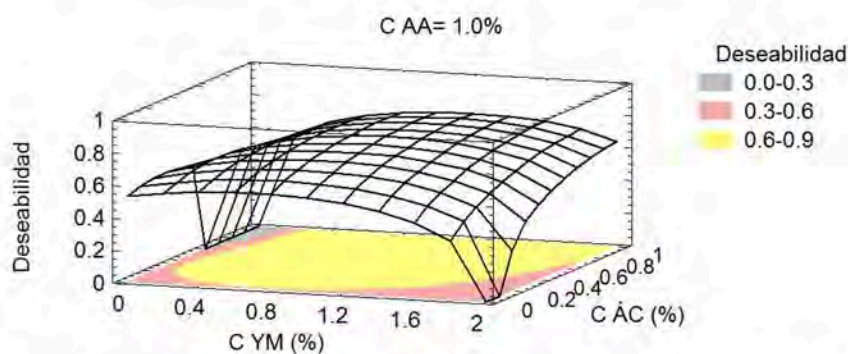
El mayor valor de deseabilidad (0,77), entre las experiencias realizadas, se obtuvo en la corrida experimental número 8, que correspondía a una solución con 1% YM, 1% $\acute{A}C$ y 1% $\acute{A}A$.



(a) Concentración de YM fija e igual a su valor óptimo (1,2%).



(b) Concentración de AC fija e igual a su valor óptimo (0,9%).



(c) Concentración de AA fija e igual a su valor óptimo (1,0%).

Figura 3.75. Superficie de respuesta estimada para la función Deseabilidad.**3.3.3.3. Validación de los modelos obtenidos.**

Se procedió a validar los modelos obtenidos procesando las manzanas tal como se indicó en la sección 2.3.3.5 y realizando el tratamiento con la solución antioxidante en las concentraciones óptimas determinadas en la sección 3.3.3.2 (1,2% YM + 0,9% AC + 1,0% AA). En la Tabla 3.53 se presentan los valores experimentales obtenidos y los predichos por cada uno de los modelos.

Tabla 3.53. Valores experimentales y predichos para la validación de los modelos para manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con una solución de [1,2% YM+ 0,9% ÁC + 1,0% ÁA].

Respuesta	Valor experimental	Valor predicho	Intervalo de confianza (95%)	Error (%) ^a
ΔL^*	$-0,1 \pm 0,5$	-0,2	[-0,7-0,3]	50,0
Δa^*	$0,3 \pm 0,2$	0,3	[0,0-0,7]	0,0
Pardeamiento	$0,3 \pm 0,4$	0,6	[0,0-1,1]	50,0
Gusto ácido	$5,6 \pm 0,8$	6,0	[5,5-6,5]	6,7
Off-flavors	$3,0 \pm 1,0$	2,45	[1,9-3,0]	22,5
CAO _{DPPH} *	$114,4 \pm 19,0$	108,7	[93,0-124,4]	5,2
CAO _{FRAP}	$374,9 \pm 36,8$	402,9	[367,2-438,6]	6,6

^aError (%) = |(Valor experimental-Valor predicho)*100/Valor predicho|.

En las respuestas ΔL^* , y pardeamiento se obtuvieron errores porcentuales altos (50%). Sin embargo, estos errores altos no se deben a una gran diferencia entre el valor experimental y el predicho sino a la baja magnitud del valor predicho (inferior a 1), que corresponde al denominador en la fórmula del error.

Teniendo en cuenta los valores de los errores porcentuales y que todos los valores experimentales se encuentran dentro del intervalo de confianza correspondiente al valor estimado para cada una de las variables independientes, se aceptan los modelos obtenidos para predecir ΔL^* , Δa^* , pardeamiento, gusto ácido, off-flavors y capacidad antioxidante por el método del radical DPPH* y por FRAP, de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas, tratadas con solución antioxidante.

3.3.4. Efecto del mínimo procesamiento

Se evaluó el efecto del mínimo procesamiento y del tratamiento con la solución de [ácido cítrico + ácido ascórbico + infusión de yerba mate] en las concentraciones óptimas determinadas en la sección 3.3.3.2, sobre las características fisicoquímicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de manzanas ‘Granny Smith’. Las frutas se procesaron como se indicó en la sección 2.3.2.1 del capítulo Materiales y Métodos. Un lote de manzanas cortadas tratadas solamente con agua constituyeron las muestras control (C), y otro lote de manzanas

cortadas tratadas con la solución [0,9% de ácido cítrico (ÁC) + 1,0% de ácido ascórbico (ÁA) + 1,2% de yerba mate (YM)] constituyeron las muestras tratadas (T).

El día del procesamiento se determinó: pH, sólidos solubles, firmeza, parámetros instrumentales de color (L^* , a^* , b^* , C_{ab}^* y h_{ab}), polifenoles totales, ácido ascórbico, vitamina C y capacidad antioxidante, tanto en la materia prima (MP), como en las manzanas mínimamente procesadas tratadas con agua (C) y en las tratadas con la solución de [ÁC+ÁA+YM] (T). A su vez se realizó el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT), psicrotrofos, mohos y levaduras. Un panel sensorial entrenado evaluó los atributos: apariencia general, pardeamiento, flavor característico, gusto ácido, astringencia, off-flavors, crujencia, jugosidad y off-odors, en las tres muestras.

En la Tabla 3.54 se presentan los resultados de pH, sólidos solubles y firmeza obtenidos para MP, C y T. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores de pH y firmeza de MP y C, por lo tanto el mínimo procesamiento por sí mismo no tuvo efecto sobre el pH ni la firmeza de las muestras. El tratamiento químico generó un descenso significativo ($p < 0,05$) del pH de la muestras con respecto a MP, lo que era esperable por la aplicación de una solución con $pH = 2,81$. No se detectó diferencia significativa ($p > 0,05$) entre la firmeza de MP y C ni entre la de C y T, sin embargo T fue significativamente ($p < 0,05$) menos firme que MP. El mínimo procesamiento de las manzanas puede contribuir a la pérdida de firmeza debido a la acción de enzimas pécticas. Al cortar las superficies, la compartimentación subcelular se rompe y se ponen en contacto enzimas y sustratos, que normalmente están separados, pudiéndose iniciar reacciones que en condiciones normales no ocurren (Rojas-Graü et al., 2009).

Tabla 3.54. pH, sólidos solubles y firmeza de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

Muestra	pH	Sólidos solubles (°Brix)	Firmeza (N)
MP	$(3,44 \pm 0,05)^b$	$(11,8 \pm 0,3)^c$	$(68,6 \pm 3,8)^b$
C	$(3,43 \pm 0,05)^{a,b}$	$(10,2 \pm 0,6)^a$	$(65,6 \pm 4,7)^{a,b}$
T	$(3,35 \pm 0,05)^a$	$(11,0 \pm 0,6)^b$	$(61,2 \pm 3,2)^a$

Promedios \pm desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey). MP: materia prima; C: control; T: tratada.

La materia prima (MP) presentó el mayor valor de sólidos solubles, seguido de la muestra tratada (T). Esto puede explicarse por la lixiviación de compuestos solubles al sumergir

las manzanas en las soluciones. En el caso de T, la reducción en el contenido de sólidos solubles es menor que en la muestra control (C) (Tabla 3.54) porque la solución aplicada de YM, ÁC y ÁA tiene un contenido de sólidos solubles de 2,3 °Brix.

Gómez et al. (2012) trabajaron con manzanas 'Granny Smith' con valores entre 11,1 y 13,2 °Brix y pH entre 3,2 y 3,5. Otro estudio comparó las características de distintas variedades de manzana y para 'Granny Smith', reportó pH= 3,5±0,1, sólidos solubles= 13,6±0,1 °Brix y firmeza= 59,3±6,3 N (Altisent et al., 2014). Ambos trabajos publicaron valores similares a los aquí obtenidos para la materia prima. Rodríguez Arzuaga et al. (2013) compararon el comportamiento de manzanas 'Granny Smith' sin mínimo procesamiento (MP), mínimamente procesadas sin tratamiento químico (T1) y tratada químicamente con [0,5% ÁC+0,5% ÁA+0,25% cloruro de calcio] (T2) y con [1,0% ÁC+1,0% ÁA+ 0,5% cloruro de calcio] (T3). Para la materia prima reportaron resultados muy similares a los aquí presentados (pH= 3,43; sólidos solubles= 12,3 °Brix y firmeza= 71,36 N) y también observaron que al procesar la muestra sin tratamiento químico el contenido de sólidos solubles descendió y el pH se mantuvo, pero obtuvieron una disminución en la firmeza. A su vez, los tratamientos químicos aplicados por los autores repercutieron en un descenso del pH, la firmeza y los sólidos solubles respecto de la materia prima, que es el mismo comportamiento observado en el presente estudio.

En la Tabla 3.55 se presentan los resultados de los parámetros de color L^* , a^* , b^* , C_{ab}^* y h_{ab} . L^* representa la luminosidad, mayores valores de L^* corresponden a muestras más claras, mientras que valores negativos de a^* se corresponden con tonos verdes y valores positivos con tonos rojos. Las muestras tratadas (T) presentaron los mayores valores de luminosidad (L^*) y ángulo de tono (h_{ab}), y el menor valor de a^* . El pardeamiento enzimático ocurre a través de la oxidación de orto-fenoles a quinonas, por la acción de sistemas enzimáticos tales como la polifenoloxidasas (PPO), que luego se polimerizan a pigmentos amarronados. La PPO generalmente se asocia al plastidio y los sustratos fenólicos se encuentran en la vacuola, pero la ruptura celular y extracelular, que ocurre en las etapas de pelado, descorazonado y corte del mínimo procesamiento, permite que el sustrato y la enzima se pongan en contacto y, por lo tanto, reaccionen para producir pardeamiento (Roksana et al., 2013). El resultado de esta reacción se ve reflejado en una disminución de L^* (muestra más oscura) y un aumento de a^* (pérdida de tonos verdes o desarrollo de tonos rojizos), por lo tanto, el hecho de que la muestra T presente luminosidad más alta y un valor de a^* más bajo que las muestras MP y C, puede atribuirse a que el tratamiento químico aplicado inhibió o retardó el desarrollo de pardeamiento.

Las manzanas tratadas (T) también presentaron los valores de b^* y C_{ab}^* más bajos (color menos intenso), aunque para estos parámetros no se detectó diferencia significativa ($p>0,05$) entre T y C. Por otro lado, tampoco se detectaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre MP y C para ninguno de los parámetros instrumentales de color determinados. Altisent et al. (2014) midieron el color de manzanas ‘Granny Smith’ y reportaron valores de L^* de 79,6 y de h_{ab} de 111,3, que son comparables con los datos obtenidos en el presente estudio para MP. Piagentini et al. (2012) determinaron el color de manzanas ‘Granny Smith’ mínimamente procesadas tratadas con 1% ÁC y 1% ÁA y sin tratar y obtuvieron valores de L^* de alrededor de 75 y 80 y de a^* de 2 y -0,8, en las manzanas sin tratar y tratadas, respectivamente. Los resultados de L^* para ambas muestras son comparables a los aquí presentados para C y T, mientras que los de a^* son más altos. En una comparación de las características de 5 variedades de manzana, Piagentini et al. (2009) determinaron los parámetros L^* , a^* y b^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas y reportaron valores de 79,3; -0,9 y 18,6; respectivamente, que son similares a los obtenidos en el presente estudio.

Tabla 3.55. Parámetros instrumentales de color de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

Muestra	L^*	a^*	b^*	C_{ab}^*	h_{ab}
MP	(76,40±0,97) ^a	(-0,38±0,71) ^b	(17,66±1,03) ^b	(17,68±1,01) ^b	(91,25±2,41) ^a
C	(75,87±2,05) ^a	(-0,22±0,50) ^b	(16,71±1,42) ^{a,b}	(16,71±1,42) ^{a,b}	(90,80±1,67) ^a
T	(77,77±1,12) ^b	(-1,31±0,37) ^a	(16,27±1,74) ^a	(16,33±1,74) ^a	(94,75±0,84) ^c

Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p<0,05$, test de Tukey). MP: materia prima; C: control; T: tratada.

En su estudio, Rodríguez Arzuaga et al. (2013) aplicaron a manzanas ‘Granny Smith’ mínimamente procesadas un tratamiento químico con concentraciones similares de ácidos cítrico y ascórbico pero sin yerba mate (T3: 1,0% ÁC+1,0% ÁA+ 0,5% cloruro de calcio). Para las manzanas tratadas reportaron valores de a^* significativamente menores y valores de h_{ab} significativamente mayores que para las manzanas mínimamente procesadas sin tratar coincidiendo con los presentados en la Tabla 3.55. Sin embargo, Rodríguez Arzuaga et al. (2013) no detectaron diferencias significativas entre el valor de L^* de ambas muestras. Estos resultados podrían indicar que el tratamiento químico con YM aquí propuesto es más eficiente para evitar el oscurecimiento de las manzanas que uno similar sin YM.

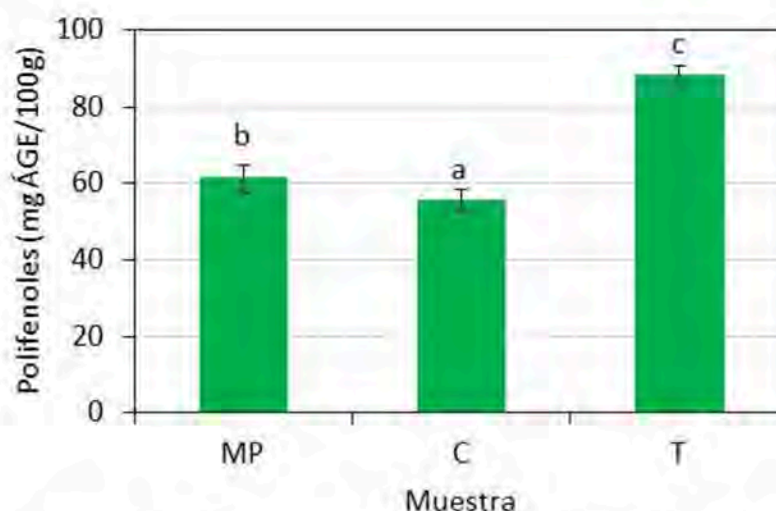


Figura 3.76. Contenido de polifenoles de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey), entre muestras. MP: materia prima; C: control; T: tratada.

En la Figura 3.76 se presentan los resultados de correspondientes al contenido de compuestos polifenólicos totales obtenidos para MP, C y T. La YM presente en la solución aplicada a T es rica en compuestos polifenólicos (Bravo et al., 2007), lo que se traduce en un incremento de estos compuestos en las manzanas con tratamiento químico (40% superior a MP). Por otro lado, el hecho de que C presente un nivel significativamente menor de polifenoles que MP se explica por la lixiviación de estas sustancias durante el lavado con agua de las manzanas cortadas. Similarmente, Rodríguez Arzuaga et al. (2013) obtuvieron el menor contenido de polifenoles en las manzanas mínimamente procesadas lavadas con agua (T1).

Altisent et al. (2014) reportaron un contenido de polifenoles totales de ‘Granny Smith’ de 54,8 mg AGE/100g, similar al determinado en el presente estudio para la materia prima (61,3 mg AGE/100g). Aguayo et al. (2010) evaluaron el contenido de polifenoles totales en manzanas variedad ‘Braeburn’ frescas cortadas sin tratar químicamente, el día de su elaboración, y obtuvieron resultados de 62,9 mg/100g, que son muy similares a los obtenidos para la muestra C en el presente estudio (55,7 mg AGE/100g).

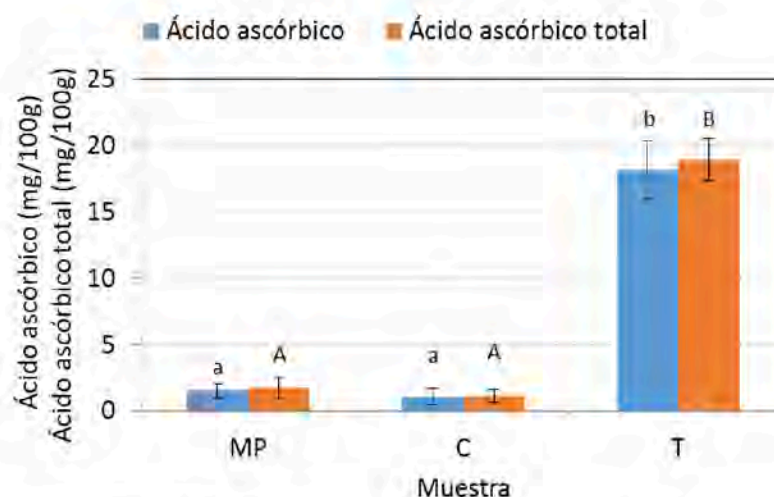


Figura 3.77. Contenido de ácido ascórbico y ácido ascórbico total de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

MP: materia prima; C: control; T: tratada. Letras distintas dentro de cada serie de datos indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey), entre muestras, para cada parámetro.

En la Figura 3.77 se presentan los resultados correspondientes al contenido de ácido ascórbico (ÁA) y ácido ascórbico total (ÁAT) o vitamina C (ÁA + ácido dehidroascórbico ÁDHA), obtenidos para las tres muestras evaluadas. La muestra T presentó un valor significativamente mayor ($p < 0,05$) de ÁA y ÁAT, lo que demuestra que al menos parte del ácido ascórbico presente en la solución aplicada, penetró en las manzanas. No se detectó diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los resultados de las muestras MP y C, por lo que se puede concluir que el mínimo procesamiento y el lavado con agua no tienen un efecto inmediato sobre el ácido ascórbico naturalmente presente en las manzanas. Altisent et al. (2014) analizaron el contenido de ácido ascórbico de manzanas ‘Granny Smith’ y obtuvieron resultados de 1,8 mg/100g. Comparando esos resultados con los aquí presentados para MP (1,5 mg/100g), se observa que son muy similares.

El ácido ascórbico representa el 86, 93 y 96% del ácido ascórbico total en MP, C y T, respectivamente. El hecho de que el ácido ascórbico sea la especie predominante es positivo desde el punto de vista nutricional, ya que el ácido L-ascórbico es el isómero biológicamente activo con mayor actividad como vitamina C, mientras que todavía hay discusión sobre la actividad vitamínica del ácido L-dehidroascórbico (ÁDHA). Algunos autores indican que el ÁDHA tiene un 10% de la actividad como vitamina C del ÁA (Nováková et al., 2008; Ogiri et al., 2002).

En la Figura 3.78 se presentan los resultados de capacidad antioxidante (CAO) por los dos métodos utilizados. En ambos casos, T presentó la mayor actividad antioxidante (27 y 43%

superior a MP, determinadas por DPPH* y FRAP, respectivamente) y no se detectó diferencia significativa ($p < 0,05$) entre MP y C. El aumento en la CAO en las muestras T se debe tanto al aporte de polifenoles realizado por la infusión de YM, como al ácido ascórbico presente en la solución antioxidante aplicada. La disminución del contenido de polifenoles de C (Figura 3.78), no se tradujo en un descenso significativo en su capacidad antioxidante.

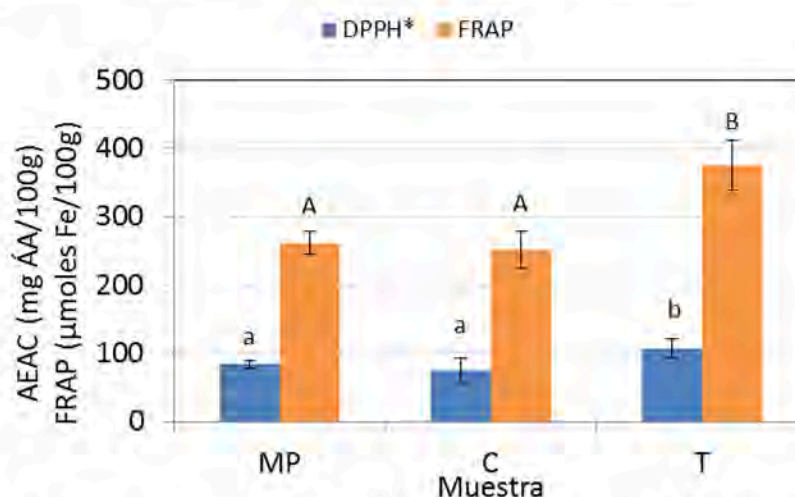


Figura 3.78. Capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP, de las muestras MP, C y T de manzanas 'Granny Smith'.

MP: materia prima; C: control; T: tratada. Letras distintas dentro de cada serie de datos indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey), entre muestras, para cada parámetro.

En la Tabla 3.56 se pueden observar los resultados obtenidos en los recuentos microbiológicos. En general, ninguno los recuentos obtenidos superan los 2 órdenes logarítmicos. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre MP, C y T para psicrotrofos, mohos y levaduras. Estos resultados sugieren que el mínimo procesamiento, con o sin tratamiento químico, no aumentó la carga de estos microorganismos. En cuanto a los aerobios mesófilos totales (AMT), C presentó un contenido significativamente menor, mientras que no hubo diferencias significativas entre los resultados obtenidos para MP y T. Estos resultados pueden explicarse por una reducción de la carga de C durante el lavado con agua. Se realizaron recuentos microbiológicos de AMT, psicrotrofos, mohos y levaduras en la solución antioxidante aplicada obteniéndose recuentos inferiores a 10 UFC/g en todos los casos. Wu et al. (2012) determinaron la carga de aerobios mesófilos totales, psicrotrofos y mohos y levaduras en manzanas 'Fuji' frescas cortadas sin tratamiento químico y obtuvieron valores de 2,1; 2,6 y 3,1 log UFC/g, respectivamente. Rojas-Graü et al. (2008) también determinaron AMT en manzanas 'Fuji' frescas cortadas sin tratar químicamente y obtuvieron recuentos de 3 log

UFC/g. Ambos estudios publican resultados algo superiores a los determinados en el presente trabajo para la muestra C.

Tabla 3.56. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT), psicrotrofos, mohos y levaduras de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

Muestra	AMT (log UFC/g)	Psicrotrofos (log UFC/g)	Mohos (log UFC/g)	Levaduras (log UFC/g)
MP	(1,6 ± 0,1) ^b	(1,4 ± 0,1) ^a	(1,4 ± 0,2) ^a	(1,2 ± 0,2) ^a
C	(1,0 ± 0,1) ^a	(1,0 ± 0,2) ^a	(1,1 ± 0,2) ^a	(1,0 ± 0,1) ^a
T	(1,7 ± 0,2) ^b	(1,1 ± 0,2) ^a	(1,0 ± 0,1) ^a	(1,0 ± 0,2) ^a

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey). MP: materia prima; C: control; T: tratada.

Los puntajes promedio obtenidos en los atributos sensoriales estudiados, luego de que un panel entrenado evaluara las muestras, se presentan en la Tabla 3.57. El mínimo procesamiento y el tratamiento químico no afectaron la astringencia, crujencia y jugosidad de las manzanas. Los valores promedio obtenidos para estos atributos fueron $1,5 \pm 0,9$; $8,0 \pm 0,8$ y $7,6 \pm 0,9$; respectivamente. La materia prima (MP) obtuvo el menor valor en apariencia general y el mayor valor en pardeamiento. Por otra parte, la muestra tratada (T) obtuvo el mayor valor en apariencia general y el menor desarrollo de pardeamiento (Tabla 3.57). Estos resultados indican que el tratamiento químico ejerce un efecto inmediato, evitando el desarrollo de pardeamiento enzimático en las manzanas. Por otro lado, el hecho de que la muestra C presente mejor apariencia que MP puede deberse a que el lavado de los octavos de manzana con agua reduce el contenido de sustancias que actúan como sustrato en la reacción de pardeamiento enzimático, lo que correlacionaría con el menor contenido de polifenoles totales determinado para la muestra control (Figura 3.76). Las operaciones básicas de procesamiento mínimo (lavado, pelado, descorazonado y cortado) no influyeron en el flavor característico, gusto ácido y presencia de off-flavors y off-odors (no se detectaron diferencias significativas entre MP y C). Sin embargo el tratamiento químico con yerba mate y ácidos cítrico y ascórbico sí tuvo un efecto sobre estos atributos, disminuyendo ligeramente el flavor característico y aumentando entre 0,5 y 2,3 puntos el gusto ácido, off-flavors y off-odors con respecto a MP (Tabla 3.57).

Tabla 3.57. Atributos sensoriales de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

Muestra	Apariencia general	Pardeamiento	Flavor característico	Gusto ácido	Off-flavors	Off-odors
MP	(6,1±0,7) ^a	(4,1±1,0) ^c	(5,1±0,6) ^b	(5,1±0,6) ^{a,b}	(0,6±0,9) ^a	(0,7±0,9) ^a
C	(6,9±1,1) ^b	(3,2±1,0) ^b	(4,9±0,8) ^b	(4,5±1,0) ^a	(0,4±0,7) ^a	(0,5±0,6) ^a
T	(9,0±0,4) ^c	(0,3±0,4) ^a	(3,8±0,6) ^a	(5,6±0,8) ^b	(2,9±1,1) ^b	(2,3±0,7) ^b

Promedios ± desviación estándar. Letras distintas entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$, test de Tukey). MP: materia prima; C: control; T: tratada.

En la Figura 3.79 se representan gráficamente los atributos sensoriales de las tres muestras en los que se obtuvo diferencias significativas ($p < 0,05$).

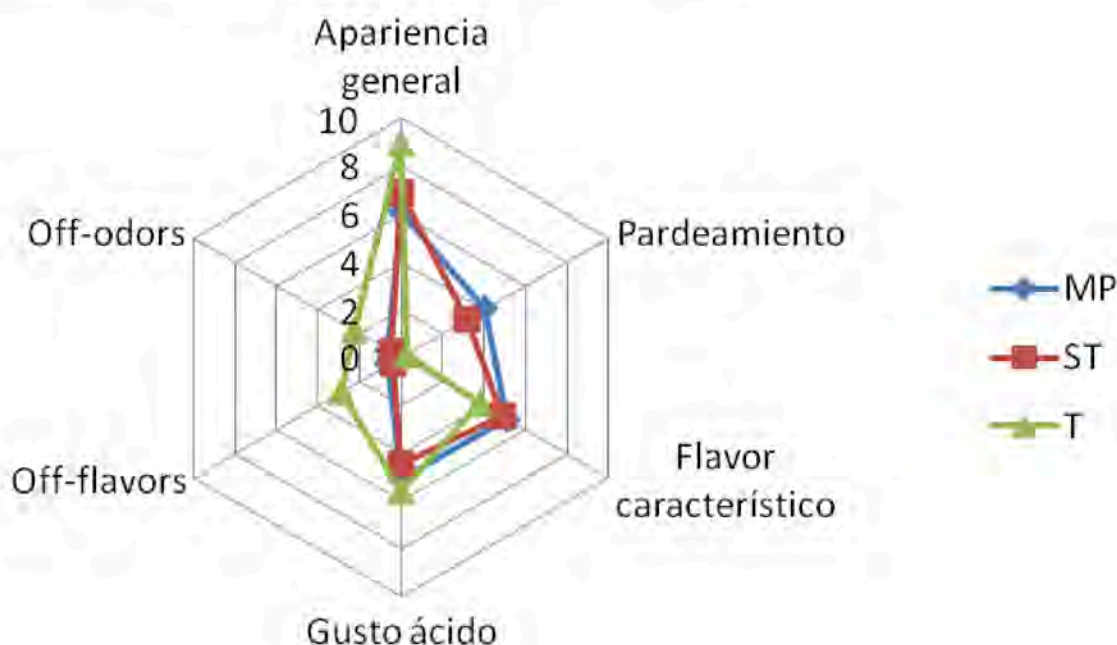


Figura 3.79. Gráfico de araña para los atributos sensoriales: apariencia general, pardeamiento, flavor característico, off-flavors y off-odors, de las muestras MP, C y T de manzanas ‘Granny Smith’.

MP: materia prima; C: control; T: tratada.

Comparando los resultados instrumentales con los resultados sensoriales para cada una de las muestras, se puede observar que T presentó el menor pH y eso se reflejó sensorialmente, ya que fue la muestra con mayor gusto ácido. En cuanto a la firmeza, si bien instrumentalmente se detectó un descenso significativo de la firmeza al aplicar el tratamiento químico, esta diferencia no se tradujo en un cambio en la crujencia sensorial de las muestras (las tres fueron

similares desde el punto de vista estadístico). Los resultados instrumentales y sensoriales coincidieron en que T fue la muestra que desarrolló menor pardeamiento con respecto a MP y C (mayor L^* , menor a^* , menor C_{ab}^* y menor puntaje en el atributo pardeamiento).

3.3.5. Ensayo de almacenamiento de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas

Se realizó un ensayo de almacenamiento con el objetivo de comparar el comportamiento de las manzanas frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante de 1,2% de yerba mate + 0,9% de ácido cítrico + 1,0% de ácido ascórbico (muestras T) con respecto a manzanas frescas cortadas sin tratamiento antioxidante (muestras C). Se estudió la evolución de los parámetros fisicoquímicos, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, recuentos microbiológicos y atributos sensoriales de las muestras C y T, durante el almacenamiento refrigerado a 2 y 10°C. Esto permitió analizar cada una de las respuestas en función de los tres factores: tratamiento químico (C y T), temperatura de almacenamiento (2°C y 10°C) y tiempo de almacenamiento (en días).

3.3.5.1. Parámetros fisicoquímicos

♦ pH, contenido de sólidos solubles y firmeza

Los resultados de pH, sólidos solubles y firmeza obtenidos para las muestras tratadas (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2 y 10°C se encuentran en las Tablas 3.58 y 3.59, respectivamente.

Inicialmente, las muestras T presentan un pH más bajo que C, lo que era esperable debido al tratamiento ácido aplicado ($pH_{\text{solución}} = 2,81$). Por otro lado, a lo largo del almacenamiento, el pH de las muestras C y T no se modifica significativamente, tanto para 2 como para 10°C.

El contenido de sólidos solubles de las manzanas tratadas (T) fue ligeramente superior el día 0, pero esta diferencia no se mantuvo durante el almacenamiento. Luego de un día de almacenamiento el contenido de sólidos solubles no se modificó significativamente debido al tratamiento aplicado (la solución aplicada tenía 2,3° Brix) ni durante el almacenamiento a 2 y 10°C, manteniéndose los valores de todas las muestras entre 10,4 y 12,5°Brix.

Tabla 3.58. pH, sólidos solubles y firmeza de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C.

Tiempo (días)	pH		Sólidos solubles (°Brix)		Firmeza (N)	
	C	T	C	T	C	T
0	3,43±0,05	3,34±0,06	9,9±0,7	10,6±0,2	63,8±4,2	62,7±2,3
1	3,43±0,01	3,34±0,01	11,2±0,4	10,4±0,3	60,7±5,8	66,0±4,5
2	3,51±0,05	3,42±0,06	11,0±0,2	10,7±0,2	64,8±3,5	62,2±3,1
4	3,41±0,09	3,33±0,10	11,7±0,2	10,8±0,7	65,8±7,2	62,2±3,4
7	3,40±0,05	3,50±0,06	11,2±0,1	10,8±0,6	62,7±3,5	60,8±10,0
10	3,46±0,06	3,50±0,06	11,5±0,1	11,7±0,4	66,5±3,9	65,6±7,0
15	3,46±0,06	3,40±0,06	12,2±0,1	10,4±0,1	66,8±2,7	63,0±2,2
18	3,58±0,05	3,38±0,01	11,5±0,3	11,4±0,0	65,0±3,9	63,3±6,3

Promedios ± desviación estándar.

Tabla 3.59 pH, sólidos solubles y firmeza de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 10°C.

Tiempo (días)	pH		Sólidos solubles (°Brix)		Firmeza (N)	
	C	T	C	T	C	T
0	3,58±0,01	3,36±0,06	10,4±0,3	11,4±0,8	67,3±5,1	59,1±3,5
1	3,55±0,01	3,45±0,01	11,8±0,3	11,1±0,2	59,8±4,3	63,2±8,8
2	3,48±0,05	3,54±0,01	12,5±0,3	11,3±0,8	65,3±4,5	59,8±1,9
5	3,47±0,05	3,40±0,06	12,2±0,7	10,5±0,1	64,6±2,4	61,9±7,6
7	3,37±0,05	3,50±0,06	10,4±0,0	10,9±0,1	64,7±5,3	61,5±4,8
9	3,52±0,05	3,48±0,10	10,9±0,2	10,9±0,2	66,0±5,9	64,8±6,3
12	3,53±0,10	3,50±0,06	11,1±0,1	11,5±0,1	61,8±5,3	59,1±4,1
15	3,50±0,05	3,50±0,06	10,0±0,3	10,0±0,0	61,4±4,8	61,0±5,1

Promedios ± desviación estándar.

Wu et al. (2012) almacenaron manzanas variedad 'Fuji' frescas cortadas sin tratar y tratadas con una solución de 0,5% ÁA+ 0,5% ÁC + 0,5% CaCl₂, durante 14 días a 4°C, y no encontraron variaciones significativas en el contenido de sólidos solubles de ninguna de las muestras a lo largo de todo el almacenamiento, similarmente a lo aquí encontrado.

Una de las posibles consecuencias indeseables del corte es el ablandamiento. El daño al tejido resulta en una pérdida de firmeza, principalmente debida a la hidrólisis enzimática de las sustancias pécticas presentes en la pared celular y la acción de las enzimas pectinolíticas, el descenso de la cristalinidad de la celulosa y el afinamiento de las paredes celulares (Qi et al., 2011), por lo que resulta de interés evaluar la firmeza de las muestras.

Similarmente a lo encontrado para el contenido de sólidos solubles, la firmeza de las manzanas frescas cortadas no se modificó debido al tratamiento aplicado, ni durante el almacenamiento a 2 y 10°C (Tablas 3.58 y 3.59).

Rodríguez Arzuaga et al. (2013) evaluaron el pH, el contenido de sólidos solubles y la firmeza inicial y luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con 2 soluciones antioxidantes: T2 (0,5% de ácido cítrico+0,5% de ácido ascórbico+0,5% de cloruro de calcio) y T3 (1,0% de ácido cítrico+1,0% de ácido ascórbico+1,0% de cloruro de calcio), y las compararon con manzanas frescas cortadas lavadas con agua (T1). Al igual que lo obtenido en el presente trabajo de tesis, los autores reportaron que las muestras tratadas presentaron un menor valor de pH que la muestra control. Además, no encontraron diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles entre las muestras tratadas y control ni en el día inicial ni luego de los 7 días. También determinaron que la firmeza de las manzanas frescas cortadas fue similar para los tres tratamientos aplicados y no se modificó significativamente durante los 7 días de almacenamiento. Sin embargo, en el estudio realizado por Cocci et al. (2006), los valores de firmeza de manzanas 'Golden Delicious' frescas cortadas tratadas químicamente con 1% de ÁA y 1% de ÁC, disminuyeron significativamente con el tiempo de almacenamiento, y en comparación con las manzanas control.

◆ Color

El color es un indicador de la frescura y calidad de frutas y hortalizas y puede utilizarse para definir parámetros de calidad internos y externos (Altisent et al., 2014).

Los cambios de color de las muestras de manzanas control y tratadas se evaluaron a través de los parámetros instrumentales L*, a*, b*, C_{ab}* y h_{ab}.

Se determinó la luminosidad (L^*) de las muestras C y T durante el almacenamiento a 2 y 10°C (Figura 3.80).

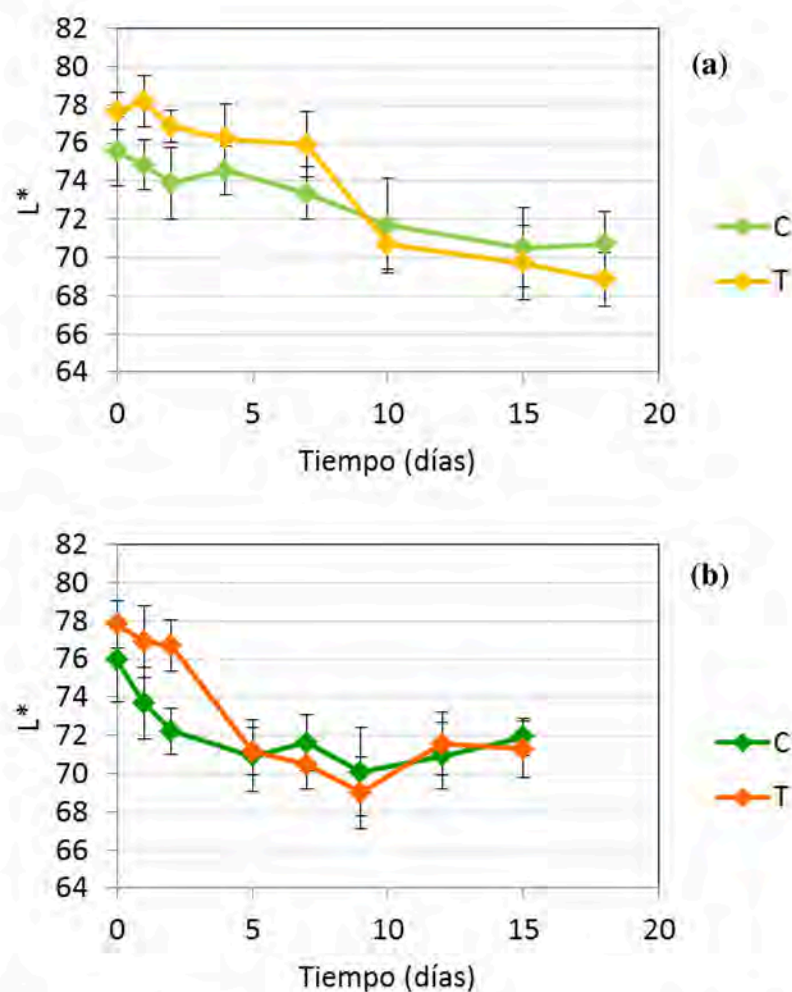


Figura 3.80. Parámetro instrumental de color L^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

Como se observa en la Figura 3.80a, durante el almacenamiento a 2°C ocurre una disminución del parámetro L^* tanto en las muestras control (C) como en las tratadas (T), lo que se traduce en un oscurecimiento de las muestras. Hasta el día 10 las manzanas tratadas químicamente son más claras (L^* mayor) que las muestras control (sin tratamiento químico), mientras que desde el día 10 en adelante no existen diferencias entre ambas muestras. Por otro lado, a 10°C (Figura 3.80b) T también presenta mayor luminosidad desde el inicio hasta el séptimo día de almacenamiento, y a partir de ese día el parámetro L^* de las muestras tratadas (T) y control (C) no difiere significativamente.

Piagentini et al. (2012) almacenaron manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con una solución de 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico, y sin tratar, a 2,5°C, y reportaron resultados muy similares a los obtenidos en el presente estudio. Al día 0 obtuvieron valores de L* de aproximadamente 78 y 76 para las manzanas tratadas y sin tratar, respectivamente, y luego de 15 días de almacenamiento la luminosidad de ambas muestras disminuyó.

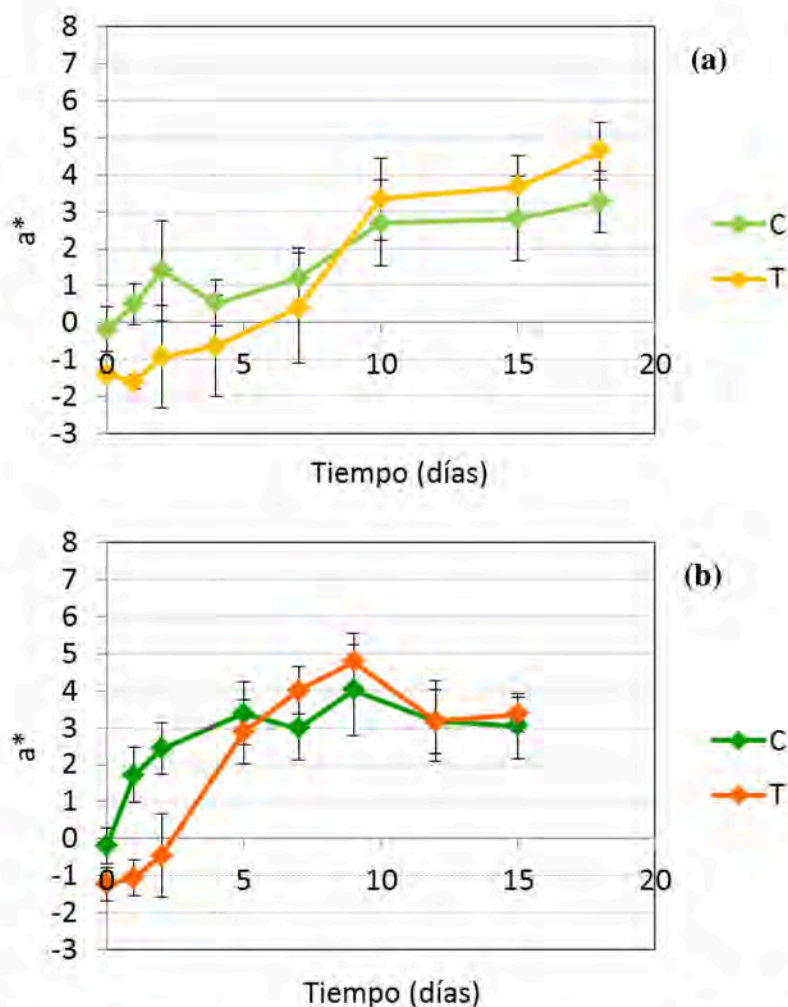


Figura 3.81. Parámetro instrumental de color a^* de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

Los resultados obtenidos para a^* (Figura 3.81) se conciden con los obtenidos para L^* . Valores de a^* negativos se corresponden con tonos verdes y valores de a^* positivos con tonos rojizos. Inicialmente las muestras sin tratamiento químico (C) presentaron valores de a^* superiores al de las muestras tratadas (T). Al igual que en el caso de la luminosidad, esta diferencia desaparece a los 10 días para el almacenamiento a 2°C (Figura 3.81a) y a los 7 días

para el almacenamiento a 10°C (Figura 3.81b). Además, se observó un aumento de a^* durante el almacenamiento de ambas muestras para ambas temperaturas.

C_{ab}^* representa la cromaticidad o intensidad del color. Analizando las tendencias obtenidas en este parámetro tanto para las muestras C como para las muestras T, a ambas temperaturas de almacenamiento (Figura 3.82), se puede afirmar que, en líneas generales, se observó un comportamiento similar al obtenido para el parámetro a^* .

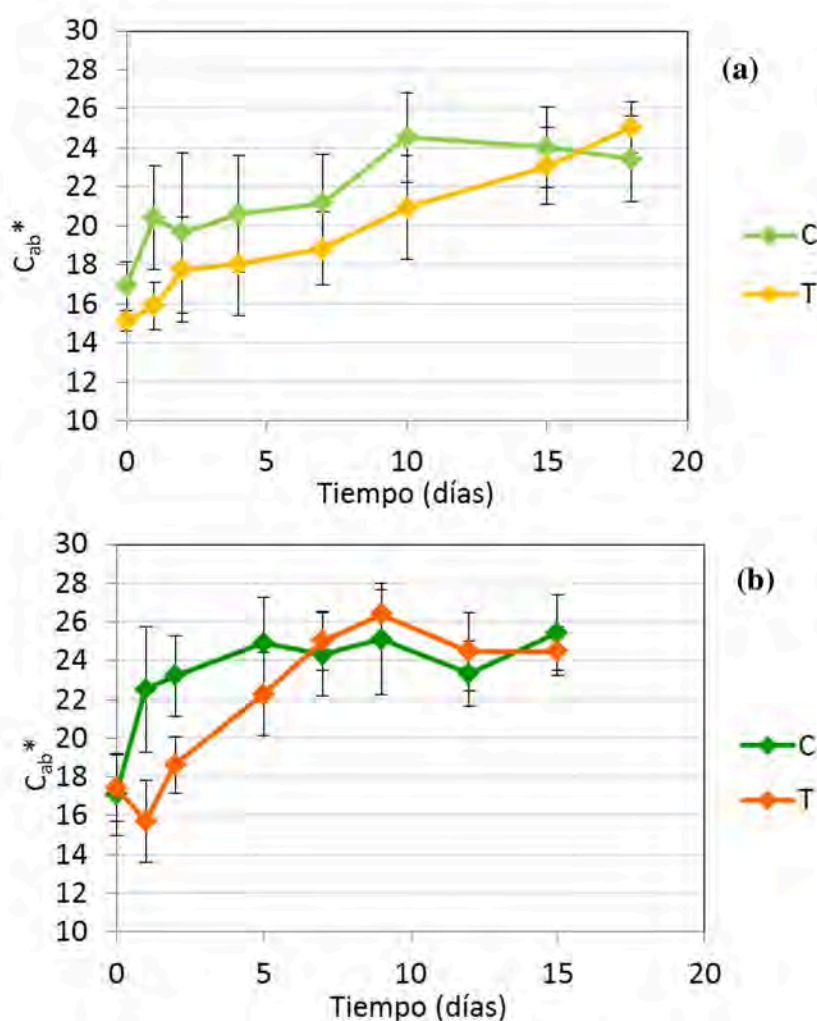


Figura 3.82. Parámetro instrumental de color C_{ab}^* de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

Los resultados obtenidos para el parámetro h_{ab} se presentan en la Figura 3.83. Las manzanas tratadas presentaron niveles de h_{ab} superiores a las muestras sin tratar hasta el día 10 y 7 a 2 y 10°C, respectivamente. Pasado este tiempo de almacenamiento las diferencias obtenidas entre las muestras no fueron significativas.

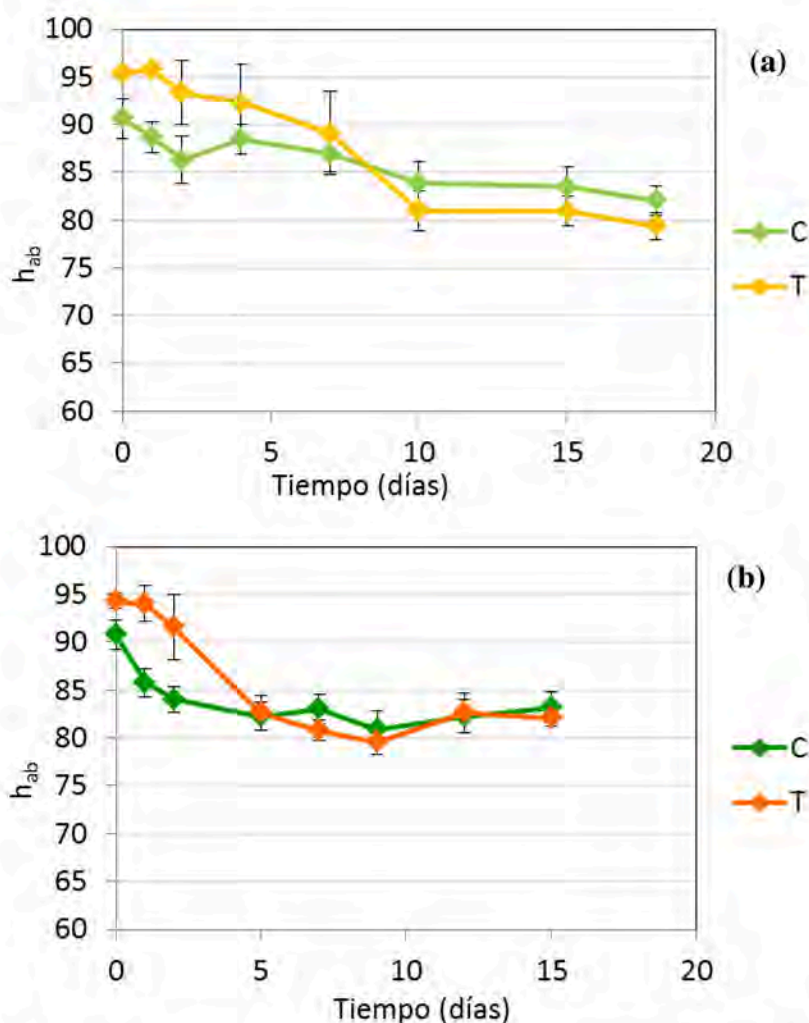


Figura 3.83. Parámetro instrumental de color h_{ab} de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C) durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

En resumen, durante el almacenamiento de ambas muestras de manzana a 2 y 10°C se observó un aumento en los parámetros a^* y C_{ab}^* y una disminución en L^* y h_{ab} , siendo estos cambios menos pronunciados durante el almacenamiento a 2°C. Piagentini et al. (2008) encontraron que el desarrollo de pardeamiento en cinco variedades distintas de manzanas frescas cortadas se representaba por un descenso en los parámetros L^* y h_{ab} y un incremento en a^* , b^* y C_{ab}^* , lo que se corresponde con los resultados aquí presentados. Por lo tanto, según los resultados obtenidos, a 2°C el desarrollo de pardeamiento ocurrió más lentamente que a 10°C. A su vez, las manzanas tratadas químicamente desarrollaron menor pardeamiento que las control hasta el décimo día de almacenamiento a 2°C y el séptimo a 10°C. Rodríguez Arzuaga et al. (2013) también encontraron que tanto en manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con soluciones de (ácido ascórbico+ácido cítrico+cloruro de calcio) como en las sin

tratar, los parámetros de color L^* y h_{ab} disminuyen, y a^* , b^* y C_{ab}^* aumentan, luego de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$. Además, reportaron que los valores de C_{ab}^* y h_{ab} de las muestras tratadas con (1% de ácido ascórbico+1% de ácido cítrico+0,5% de cloruro de calcio) fueron ligeramente inferiores y superiores, respectivamente, comparados con las otras muestras, luego de los 7 días a $1,5^\circ\text{C}$. Sin embargo, todas las muestras, tratadas y sin tratar, presentaron valores de L^* similares entre sí, a diferencia de lo aquí encontrado. Esta diferencia podría sugerir una mejora del color de las manzanas tratadas con ácido cítrico, ácido ascórbico y yerba mate, respecto de aquellas tratadas con una solución similar pero sin yerba mate.

3.3.5.2. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

♦ Contenido de polifenoles totales

Inicialmente, la concentración de polifenoles totales (PT) de las manzanas tratadas fue de 88,2 mg ÁGE/100g, un 58% superior al contenido de las muestras control (55,7 mg ÁGE/100g).

A 2°C , se observa un aumento del contenido de polifenoles entre los días 0 y 2, tanto en las manzanas tratadas como en aquellas sin tratar, de un 9 y un 19%, respectivamente (Figura 3.84a). A menudo, en los productos frescos cortados se observa un incremento del contenido de compuestos polifenólicos durante los primeros días del almacenamiento, causado por los diversos estreses abióticos que promueven un aumento en la actividad de la fenilalanina liasa (PAL), que es el primer paso en el metabolismo fenilpropanoide (Saltveit, 2000). Amodio et al. (2014) almacenaron manzanas ‘Stark Red’ a 5°C y midieron el contenido de polifenoles totales luego de 1, 2, 5 y 7 días y observaron un aumento del contenido de polifenoles entre los días 0 y 2, que coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio para el almacenamiento a 2°C .

A partir del día 2, se observó un descenso del contenido de polifenoles para ambas muestras almacenadas a 2°C . En el caso de las manzanas tratadas (T), el contenido de PT alcanzó una concentración de 64,4 mg ÁGE/100g (26% inferior al valor inicial) luego de 18 días. Por otra parte, las muestras control alcanzaron un contenido de PT de 55,3 mg ÁGE/100g, similar al contenido inicial, pero 16% inferior al de las muestras tratadas el mismo día (Figura 3.84a). Rodríguez Arzuaga et al. (2013) almacenaron a $1,5^\circ\text{C}$, manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas con diferentes tratamientos químicos y obtuvieron un descenso significativo en el contenido de polifenoles totales en las manzanas sin tratar (T1) y en aquellas tratadas con una solución de 0,5% ÁC+0,5% ÁA+0,5% CaCl_2 (T2), sin embargo no detectaron diferencias

significativas entre los polifenoles de las manzanas tratadas con una solución de 1,0% ÁC+1,0% ÁA+1,0% CaCl₂ (T3) a los días 0 y 7. Luego de 7 días a 1,5°C los valores de PT de T2 y T3 reportados por Rodríguez Arzuaga et al. (2013) fueron 72,90 y 74,52 mg ÁGE/100g, respectivamente, 17 a 19% menos que el contenido de PT obtenido para T luego de 7 días a 2°C (89,8 mg ÁGE/100g), en el presente estudio. Esta diferencia podría deberse a la presencia de YM en la solución aquí aplicada.

A 10°C se observó un ligero descenso en el contenido de PT durante el primer día de almacenamiento para ambas muestras y una posterior estabilización, siendo siempre superior el contenido de PT en las muestras tratadas. Luego de 15 días de almacenamiento T presentó un contenido de PT de 72,4 mg ÁGE/100g, 16% superior al de las muestras control el mismo día (Figura 3.84b). Cocci et al. (2006) obtuvieron un descenso del 50% del contenido de polifenoles en manzanas 'Golden Delicious' frescas cortadas tratadas con una solución de 1% ÁA+1% ÁC y sin tratar, luego de 1 día a 4°C, que luego se mantuvo constante y similar para ambos tratamientos, hasta el final del almacenamiento en frío. Los autores resaltaron que este fenómeno podría deberse a la rápida oxidación de los PT en la superficie de corte, que está directamente en contacto con el O₂ del espacio de cabeza. En ese caso, el equilibrio entre los PT y los compuestos de color marrón producidos por la acción de la PPO se alcanzó rápidamente (en 2 días), y no cambió hasta el final del experimento. Cocci et al. (2006) también indicaron que esta hipótesis se ve confirmada por la fuerte correlación negativa encontrada entre los PT y el desarrollo de pardeamiento, similarmente a lo reportado por Rocha y Morais (2003). Además, y al igual que a lo aquí encontrado, Cocci et al. (2006) obtuvieron niveles de PT más altos para las muestras tratadas con ácido ascórbico + ácido cítrico en comparación con aquellos no tratadas, debido a la acción reductora del ácido ascórbico que impidió una mayor degradación de los PT (Gil et al., 1998).

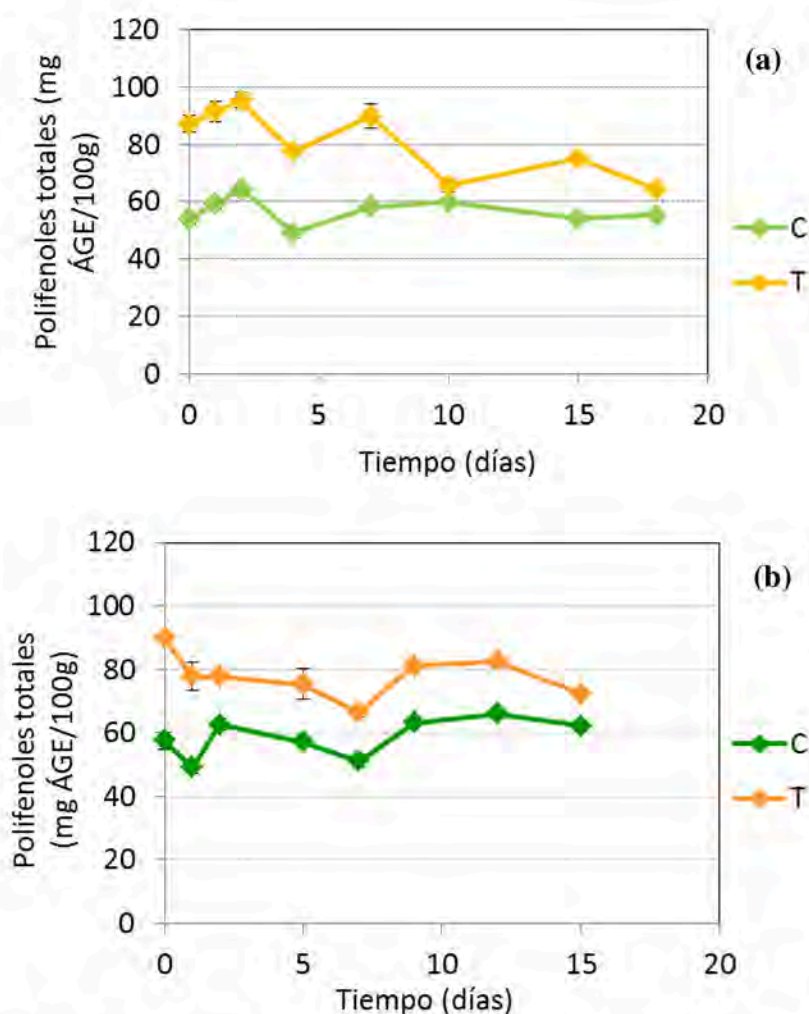


Figura 3.84. Polifenoles totales de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras de error representan la desviación estándar.

El desarrollo del pardeamiento enzimático ocurre a expensas de la oxidación de los polifenoles por acción de las enzimas polifenol oxidasas (Altunkaya y Gökmen, 2009). En contraposición, los estreses abióticos pueden inducir la síntesis de compuestos polifenólicos, tal como se mencionó anteriormente. Estas dos reacciones actúan en sentido opuesto y dependiendo de cuál de las dos prevalezca se observará un incremento o un descenso en la concentración de estos compuestos.

Wu et al. (2012) reportaron una disminución del 32% del contenido de compuestos polifenólicos totales en manzanas 'Fuji' frescas cortadas tratadas con [0,5% de ácido ascórbico + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de cloruro de calcio], luego de 14 días de almacenamiento refrigerado a 4°C. Esta reducción es superior a las obtenidas en la presente tesis, donde manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con [1,2% yerba mate, 0,9% ácido cítrico y

1,0% ácido ascórbico], redujeron en un 14% y un 19% su contenido de polifenoles totales luego de 15 días de almacenamiento a 2°C y 10°C, respectivamente.

Las manzanas sin tratar químicamente (C) presentaron un nivel inicial de polifenoles de 55,7 mg ÁGE/100g. En la Figura 3.84 se puede observar que la concentración de PT de C se mantiene prácticamente constante a lo largo del almacenamiento tanto a 2 y 10°C (a excepción del incremento observado a 2°C durante los dos primeros días), terminando con contenidos de PT de 54,0 y 62,2 mg ÁGE/100g, luego de 15 días a 2 y 10°C, respectivamente. El pequeño incremento en la concentración de polifenoles durante el almacenamiento en cámara a 10°C puede deberse tanto a la variabilidad de las muestras, por tratarse de productos biológicos, como a la síntesis de polifenoles inducida por estreses abióticos.

Los diferentes comportamientos de los polifenoles de las manzanas C y T pueden deberse a que son los polifenoles aportados por la yerba mate los que se consumen inicialmente actuando como antioxidantes. Como resultado, la diferencia inicial de concentraciones en C y T se reduce al final del almacenamiento, aunque el contenido de PT de T se mantiene siempre superior al de las muestras control (C).

♦ Contenido de ácido ascórbico (ÁA) y ácido ascórbico total (ÁAT)

Los resultados obtenidos para el contenido de ácido ascórbico (ÁA) y ácido ascórbico total o vitamina C (ÁAT: ácido ascórbico+ácido dehidroascórbico), durante el almacenamiento de las manzanas frescas cortadas, se presentan en las Figuras 3.85 y 3.86, respectivamente.

Las manzanas sin tratar (C) presentaron contenidos significativamente inferiores tanto de ácido ascórbico, como de ÁAT, al de las manzanas tratadas (T) hasta el día 10, para el almacenamiento a 2°C y hasta el día 7, para el almacenamiento a 10°C (Figuras 3.85 y 3.86). A partir de estos días, se iguala el contenido ácido ascórbico de ambas muestras, mientras que las muestras T siguen presentando un nivel superior de ácido ascórbico total que las C, pero con una diferencia mucho menor a la presentada en días previos.

Los niveles de ácido ascórbico de las muestras control (C) variaron entre 1,0 mg/100g y 0,2 mg/100g, a ambas temperaturas de almacenamiento, obteniéndose la menor concentración en el último día de almacenamiento. Por otro lado, los niveles de ácido ascórbico total de C variaron entre 1,6 y 0,5 mg/100g a 2°C, y entre 1,0 y 0,2 mg/100g, a 10°C (Figuras 3.85 y 3.86).

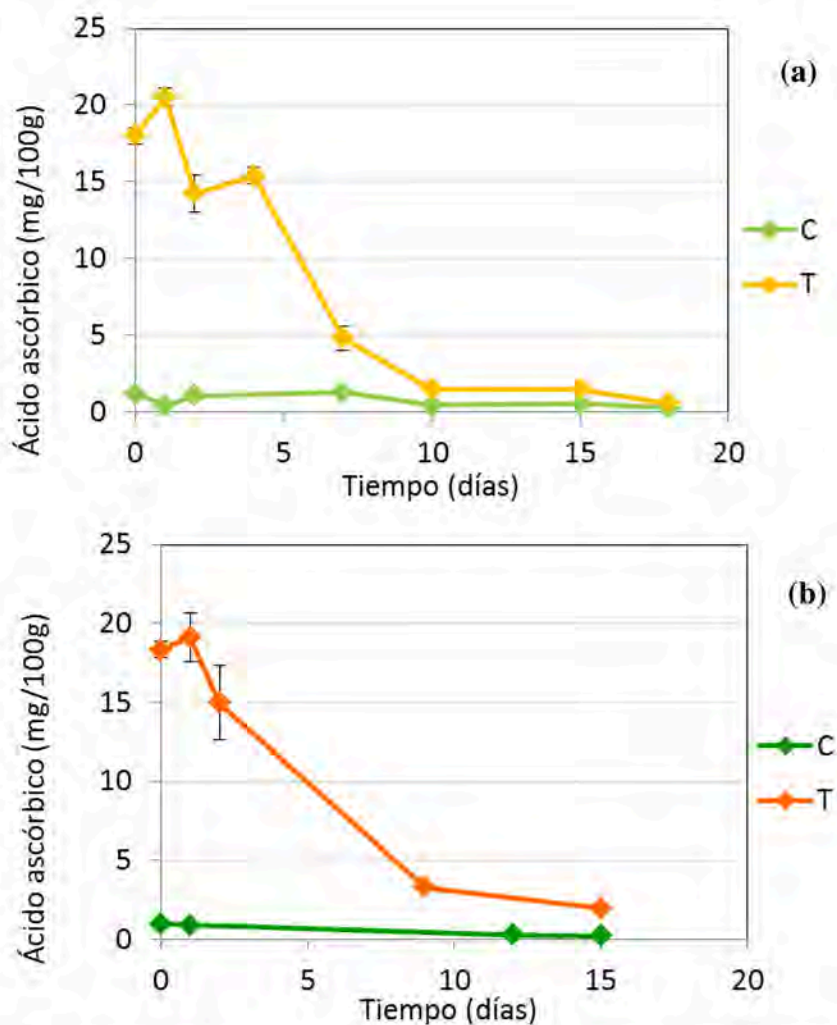


Figura 3.85. Ácido ascórbico reducido de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

El contenido inicial de ácido ascórbico obtenido para las muestras tratadas (T) fue de 18,2 mg/100g. A ambas temperaturas de almacenamiento se produjo un pico de ácido ascórbico al día 1, que correspondió a la concentración máxima obtenida durante el almacenamiento para T. A 2°C el contenido de ácido ascórbico de las manzanas tratadas varió entre 20,5 mg/100g (día 1) y 0,5 mg/100g (día 18), mientras que a 10°C varió entre 19,1 mg/100g (día 1) y 2,0 mg/100g (día 15).

El contenido de vitamina C de T presentó un comportamiento similar que el de ácido ascórbico. A 2°C el contenido de ácido ascórbico total de las manzanas tratadas varió entre 22,4 mg/100g (día 1) y 0,8 mg/100g (día 18), mientras que a 10°C varió entre 19,5 mg/100g (día 1) y 2,2 mg/100g (día 15).

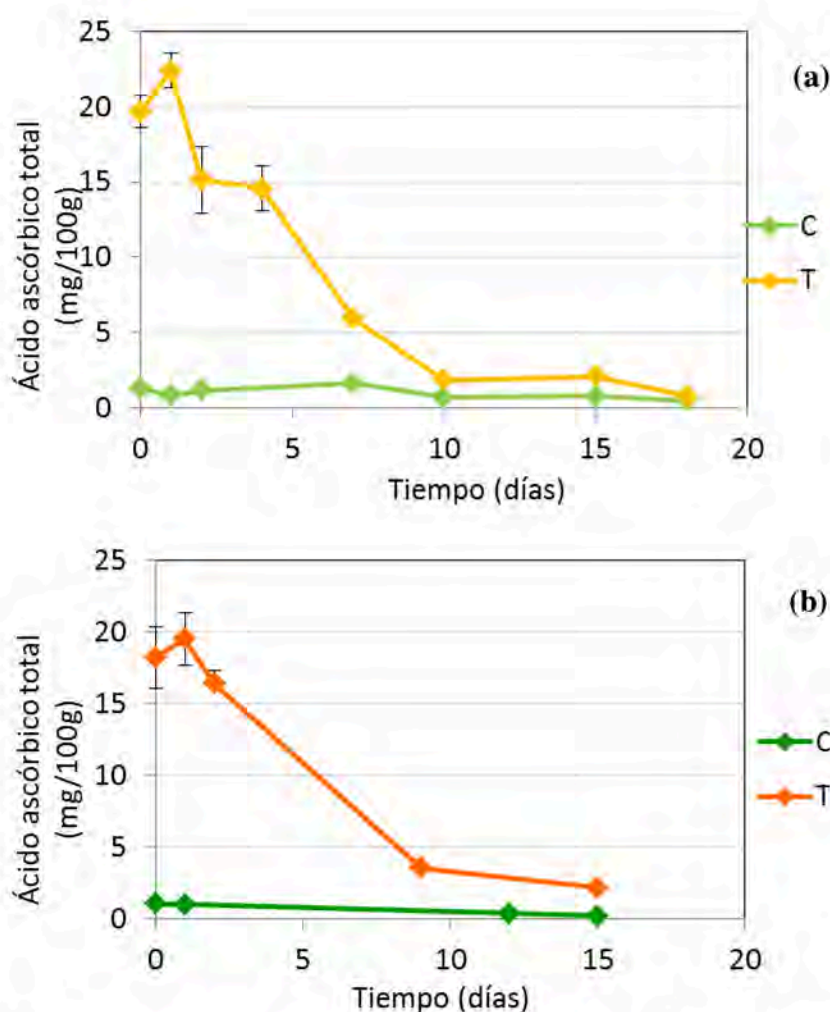


Figura 3.86. Ácido ascórbico total de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras representan la desviación estándar.

Estos resultados coinciden con los publicados por Cocci et al. (2006) donde las manzanas tratadas mostraron valores iniciales aproximadamente 20 veces más altos que los controles, a causa de la absorción de ÁA debido al tratamiento anti-pardeamiento y estos valores disminuyeron después de 1 día de almacenamiento.

El ácido L-ascórbico (ÁA) es la principal forma biológicamente activa de la vitamina C y puede ser reversiblemente oxidado a la forma de ácido L-dehidroascórbico (ÁDHA) debido a la presencia de hidroxilos en su estructura. El ÁDHA presenta actividad vitamínica pero en menor porcentaje que la forma reducida (Nováková et al., 2008).

◆ Capacidad antioxidante

Capacidad antioxidante por el método del radical DPPH*

La capacidad antioxidante (CAO) inicial de las muestras control fue de 75,9 mg ÁAe/100g. Durante el almacenamiento a 10°C la CAO de C se mantuvo constante (Figura 3.87b). Por otro lado, en la Figura 3.87a se observa que a 2°C la actividad antioxidante de la muestra C se mantiene constante hasta el día 7, luego se observa un incremento entre los días 7 y 15, y finalmente se vuelve a estabilizar. Rodríguez Arzuaga et al. (2013) también observaron un aumento significativo de la capacidad antioxidante determinada por el método del radical DPPH*, en manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas sin tratamiento químico, luego de 7 días a 1,5°C.

En cuanto a las manzanas tratadas con solución antioxidante, la capacidad antioxidante inicial promedio fue de 106,6 mg ÁAe/100g. A 2°C se observó un aumento de la actividad antioxidante durante los primeros dos días de almacenamiento, mientras que a 10°C ocurrió un descenso en la CAO durante el mismo período (Figura 3.87). Este comportamiento es similar al observado en el contenido de polifenoles totales. A partir del día 2, la actividad antioxidante determinada por el radical DPPH* se mantuvo constante para las muestras T, a ambas temperaturas de almacenamiento. Rodríguez Arzuaga et al. (2013) no detectaron diferencias significativas en la CAO de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con una solución acuosa de [0,5% ÁC+0,5% ÁA+0,25% CaCl₂] con 0 y 7 días de almacenamiento en cámara a 1,5°C.

A 2°C, T presentó una mayor CAO por el método DPPH* que C, durante los primeros 7 días de almacenamiento, y desde el día 7 en adelante C y T presentaron valores muy similares de actividad antioxidante. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Cocci et al. (2006), quienes almacenaron a 2°C manzanas ‘Golden Delicious’ frescas cortadas tratadas con 1% ÁC+1% ÁA y sin tratar, y observaron que las manzanas tratadas químicamente presentaron una mayor capacidad antioxidante determinada por el método del radical DPPH* que aquellas sin tratar, durante los primeros 6 días de almacenamiento y que a partir de este día ambas CAO se igualaban,

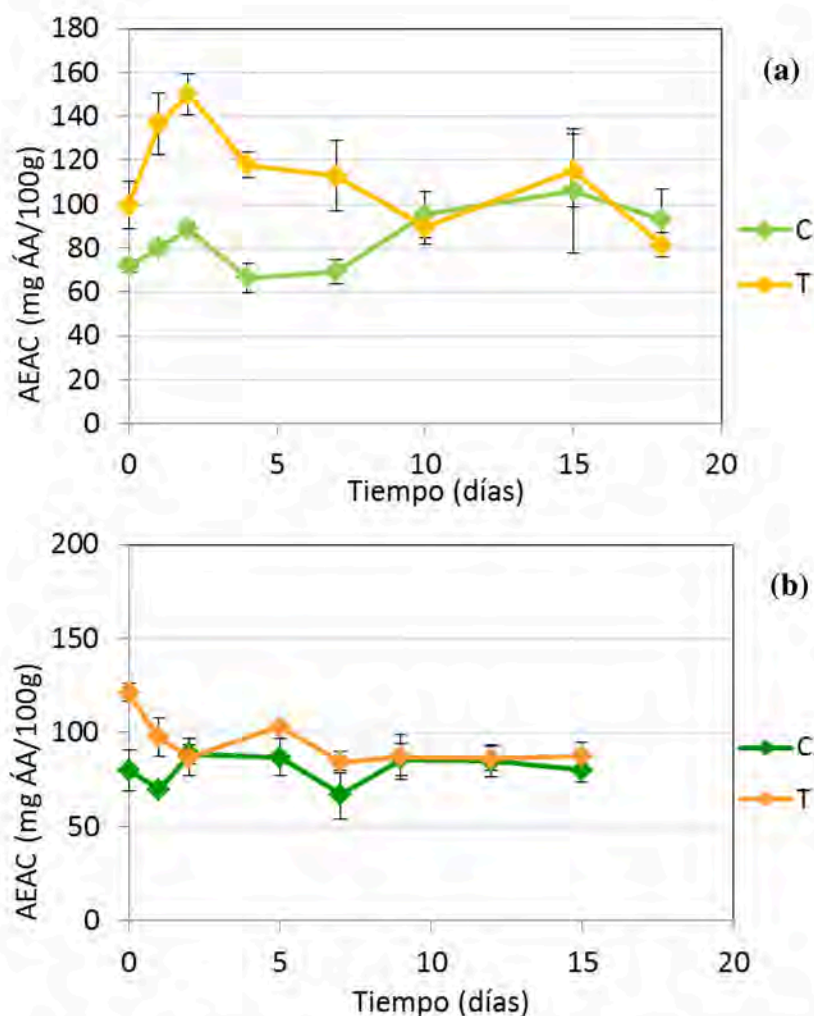


Figura 3.87. Capacidad antioxidante, determinada por el método del radical DPPH*, de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar. AEAC = Capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.

Capacidad antioxidante por el método de FRAP

Al igual que lo ocurrido con el contenido de polifenoles totales y con la capacidad antioxidante determinada por el método del radical DPPH*, la CAO obtenida por el método de FRAP, tanto de las manzanas tratadas como de las sin tratar, se mantuvo constante durante los 15 días de almacenamiento a 10°C (Figura 3.88b), siendo mayor la capacidad antioxidante de las muestras T. Por otro lado, a 2°C, tanto C como T presentaron un descenso en la actividad antioxidante al día 1, que luego se mantuvo constante hasta el final del almacenamiento.

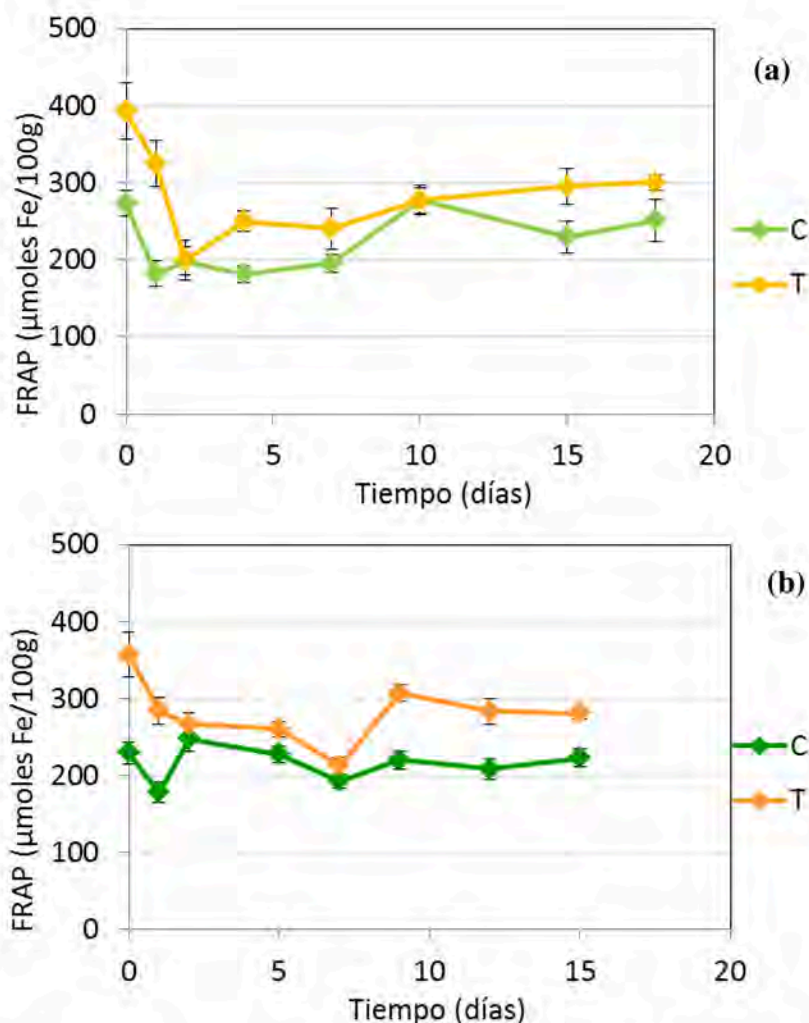


Figura 3.88. Capacidad antioxidante (CAO) determinada por el método de FRAP, de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

3.3.5.3. Atributos sensoriales

Los atributos sensoriales más importantes de las frutas y hortalizas frescas incluyen: apariencia, color, textura, sabor y aroma (Ayala-Zavala et al., 2008). Los consumidores juzgan la calidad de frutas y hortalizas frescas cortadas al momento de la compra, en base a la apariencia, pero las adquisiciones posteriores dependen de la satisfacción alcanzada en términos de textura y sabor, además de la calidad nutricional y seguridad (Rico et al., 2007).

Para estudiar la calidad sensorial de las manzanas tratadas y sin tratar a lo largo del almacenamiento, un panel entrenado de 8 jueces evaluó una serie de atributos relativos a la apariencia, sabor, aroma y textura de las muestras, utilizando escalas no estructuradas de 10 cm, tal como se indicó en la sección 2.4.11 del capítulo Materiales y métodos.

◆ Apariencia general y pardeamiento

La apariencia visual de una fruta fresca cortada es el atributo más inmediatamente obvio para el consumidor y afecta en gran medida su vida útil comercial. Muchos factores influyen en la apariencia visual, desde los efectos relacionados con el corte, a la deshidratación o la actividad microbiana. El color es un componente muy importante de la apariencia visual y puede estar influenciado por los pigmentos naturalmente presentes o por los pigmentos resultantes de reacciones de pardeamiento. El pardeamiento de las frutas es uno de los principales problemas de la industria alimentaria y se cree que probablemente es la primera causa de pérdida de calidad durante el manejo post-cosecha, procesamiento y almacenamiento (Piagentini et al. 2012; Toivonen y Brummell, 2008).

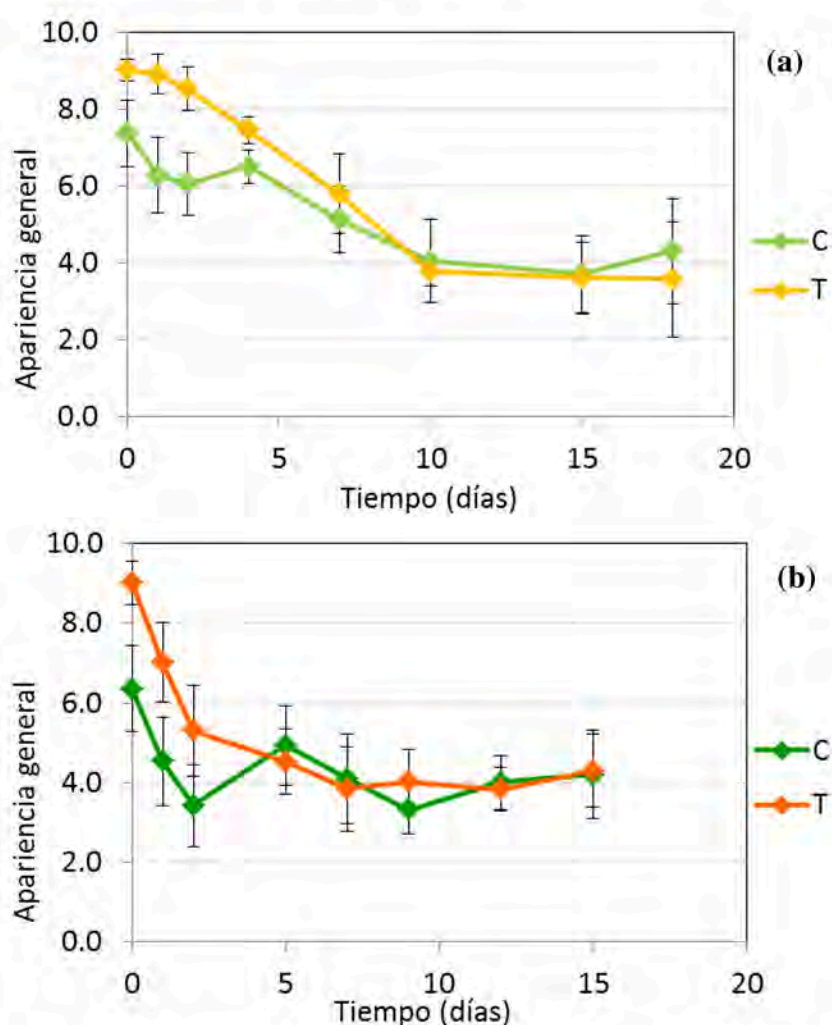


Figura 3.89. Apariencia general de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras representan la desviación estándar.

En las Figuras 3.89 y 3.90 se presentan los resultados obtenidos para apariencia general y pardeamiento durante el almacenamiento a 2 y 10°C. Tanto para las muestras almacenadas a 2°C como para aquellas almacenadas a 10°C, se observó que la apariencia general disminuyó y el pardeamiento aumentó durante el almacenamiento. Se obtuvo un coeficiente de correlación (R) entre ambos atributos de -0,95, altamente significativo ($p < 0,0001$), por lo que se deduce que el pardeamiento tiene una gran influencia en la apariencia de las manzanas frescas cortadas (Tabla 3.63).

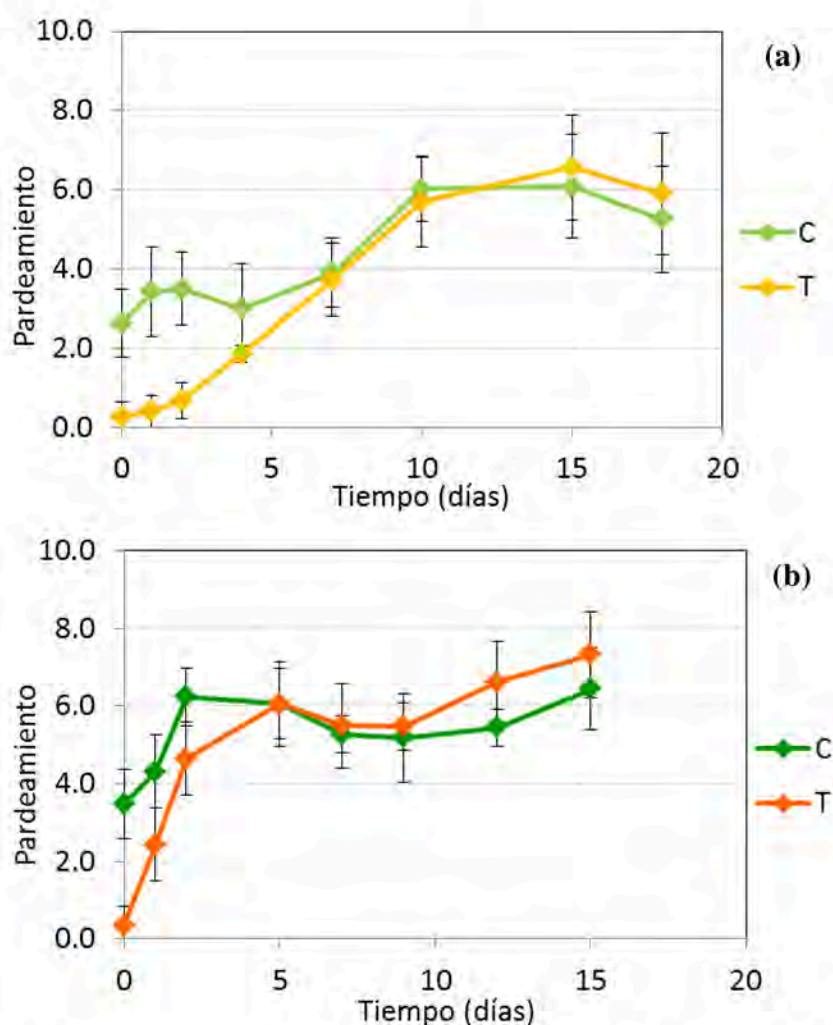


Figura 3.90. Pardeamiento de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras representan la desviación estándar.

En la Figura 3.89 se observa que a 2°C la apariencia general de las manzanas tratadas fue mayor que la de las manzanas sin tratar, hasta el día 10; mientras que a 10°C, T presenta mejor apariencia que C hasta el día 5. En el caso del pardeamiento (Figura 3.90) se observó que las muestras T presentaron menor desarrollo de pardeamiento que las C hasta el día 10 y 5, a 2

y 10°C, respectivamente. Por otro lado, durante el almacenamiento a 2°C (Figura 3.90a), el pardeamiento de las muestras tratadas químicamente se mantuvo constante ($p>0,05$) durante los primeros 4 días de almacenamiento. Analizando los resultados obtenidos para las muestras almacenadas a 10°C, se observa que en el caso de las tratadas, el pardeamiento al día 0 es muy bajo ($0,4\pm 0,5$) pero aumenta significativamente ($p<0,05$) tras 1 día de almacenamiento ($2,4\pm 0,9$), mientras que en el caso de las muestras control, al día 0 el pardeamiento es mayor que en T ($3,5\pm 0,9$), pero el incremento se observa en el día 2, donde se obtiene un importante desarrollo de pardeamiento de $6,2\pm 0,7$ (Figura 3.90b).

Los resultados obtenidos sugieren que la aplicación del tratamiento químico aquí propuesto tiene un efecto beneficioso sobre la apariencia de las manzanas frescas cortadas, a lo largo del almacenamiento, y que su aplicación en conjunto con la utilización de temperaturas de refrigeración prolonga la vida útil sensorial de las mismas.

◆ **Flavor característico, gusto ácido, off-flavors y off-odors**

El flavor supone la percepción de muchos componentes del gusto y el aroma. Los componentes más comunes del gusto de los productos frescos son dulzor, acidez, astringencia y amargor. El perfil del aroma puede cambiar dramáticamente durante la vida post-cosecha de los productos frescos, particularmente en las frutas climatéricas donde el volátil predominante puede variar significativamente dependiendo de la madurez de la fruta así como por una reacción al tratamiento post-cosecha y el procesamiento (Ayala-Zavala et al., 2008).

En la Tabla 3.60 se informan los resultados obtenidos en los atributos flavor característico, gusto ácido, off-flavors y off-odors, para el almacenamiento a 2°C. Las muestras sin tratamiento químico mantuvieron su flavor característico constante a lo largo de los 18 días. El tratamiento con ÁC, ÁA y YM no afectó el flavor característico durante los primeros 15 días de almacenamiento. Al día 0, el tratamiento químico incremento el gusto ácido, los off-flavors y off-odors en las muestras tratadas respecto de las sin tratar. Sin embargo, luego de 24 horas a 2°C, los jueces no pudieron detectar diferencias significativas entre ambas muestras para estos tres atributos. Durante los 18 días de almacenamiento a 2°C, las muestras sin tratamiento no desarrollaron off-flavors ni off-odors.

Tabla 3.60. Flavor característico, gusto ácido, off-flavors y off-odors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C.

Tiempo (días)	Flavor característico		Gusto ácido		Off-flavors		Off-odors	
	C	T	C	T	C	T	C	T
0	(4,8±0,9) ^{aA}	(4,0±0,7) ^{bA}	(4,2±0,9) ^{aA}	(5,6±0,6) ^{abB}	(0,1±0,2) ^{aA}	(2,9±1,1) ^{bB}	(0,6±0,6) ^{aA}	(2,2±0,6) ^{bB}
1	(4,9±1,1) ^{aA}	(4,1±1,0) ^{bA}	(5,2±1,0) ^{aA}	(6,1±1,1) ^{abA}	(0,5±0,6) ^{aA}	(1,0±1,0) ^{aA}	(0,2±0,4) ^{aA}	(0,3±0,5) ^{aA}
2	(4,6±0,9) ^{aA}	(3,4±1,0) ^{abA}	(5,5±0,9) ^{abA}	(6,7±0,8) ^{bA}	(0,6±0,9) ^{aA}	(0,7±0,6) ^{aA}	(1,3±0,8) ^{aA}	(0,7±0,7) ^{abA}
4	(3,9±1,1) ^{aA}	(3,5±1,5) ^{abA}	(4,1±0,1) ^{aA}	(4,9±1,8) ^{abA}	(0,8±1,1) ^{aA}	(1,3±0,4) ^{abA}	(1,0±1,4) ^{aA}	(0,8±1,1) ^{abA}
7	(5,0±0,9) ^{aA}	(4,9±0,8) ^{bA}	(6,9±0,9) ^{bB}	(4,6±1,0) ^{aA}	(0,4±0,5) ^{aA}	(1,2±1,0) ^{aA}	(0,7±0,8) ^{aA}	(0,8±0,8) ^{abA}
10	(4,4±0,8) ^{aA}	(4,5±0,9) ^{bA}	(5,5±1,1) ^{abA}	(4,8±1,0) ^{aA}	(0,2±0,4) ^{aA}	(0,5±0,8) ^{aA}	(0,4±0,6) ^{aA}	(1,3±1,1) ^{abB}
15	(4,9±1,3) ^{abB}	(3,5±1,4) ^{abA}	(6,8±1,4) ^{bB}	(5,0±1,6) ^{abA}	(1,0±1,3) ^{aA}	(3,2±0,9) ^{bB}	(1,8±1,7) ^{aA}	(1,6±1,1) ^{abA}
18	(5,0±1,3) ^{abB}	(2,2±1,0) ^{aA}	(6,9±1,0) ^{bB}	(5,5±1,5) ^{abA}	(0,8±1,1) ^{aA}	(2,9±1,8) ^{bB}	(1,5±1,4) ^{aA}	(1,8±1,4) ^{abA}

Promedios ± desviación estándar. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre filas. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos para cada atributo.

En la Tabla 3.61 se presentan los resultados obtenidos en los atributos flavor característico, off-flavors y off-odors, durante el almacenamiento a 10°C. Al igual que en el caso del almacenamiento a 2°C (Tabla 3.60), las manzanas sin tratar no mostraron diferencias significativas en el flavor característico a lo largo del almacenamiento. Manzocco et al. (2011) realizaron una evaluación sensorial con panel entrenado de manzanas ‘Pink Lady’ frescas cortadas durante 14 días de almacenamiento a 6°C y, al igual que lo obtenido en el presente estudio para la variedad ‘Granny Smith’ a 2 y 10°C, no obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el flavor característico para las muestras control (sin tratar).

El tratamiento químico y el tiempo de almacenamiento a 10°C no afectaron significativamente el gusto ácido, que fue de $5,3 \pm 1,0$ en promedio, para ambas muestras a lo largo del almacenamiento.

Tabla 3.61. Flavor característico, off-flavors y off-odors de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 10°C.

Tiempo (días)	Flavor característico		Off-flavors		Off-odors	
	C	T	C	T	C	T
0	(4,9±0,9) ^{aB}	(3,5±0,2) ^{abA}	(0,6±0,8) ^{aA}	(3,1±1,1) ^{bB}	(0,5±0,7) ^{aA}	(2,3±0,8) ^{abcdB}
1	(5,2±1,0) ^{aA}	(4,5±1,0) ^{abA}	(1,8±0,8) ^{abA}	(1,1±1,0) ^{aA}	(1,9±0,7) ^{abcA}	(1,4±0,4) ^{abA}
2	(3,8±1,0) ^{aA}	(4,4±0,8) ^{abA}	(2,3±1,0) ^{bA}	(2,7±1,0) ^{abA}	(2,5±1,1) ^{bcA}	(1,7±1,0) ^{abcA}
5	(5,0±0,9) ^{aA}	(4,9±1,1) ^{bA}	(2,5±0,7) ^{bA}	(2,6±0,8) ^{abA}	(2,7±1,0) ^{cA}	(3,0±1,1) ^{cdA}
7	(4,1±1,1) ^{aA}	(3,3±1,1) ^{aA}	(2,3±0,9) ^{bA}	(3,8±1,1) ^{bB}	(2,7±0,4) ^{cA}	(2,6±0,6) ^{bcdA}
9	-	-	-	-	(1,0±1,0) ^{abA}	(1,1±1,1) ^{aA}
12	-	-	-	-	(1,2±1,1) ^{abA}	(3,2±0,3) ^{dB}
15	-	-	-	-	(2,3±0,5) ^{bcA}	(1,2±1,1) ^{abA}

Promedios ± desviación estándar. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre filas. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre tratamientos para cada atributo.

◆ Crujencia, jugosidad y astringencia

Los atributos crujencia y jugosidad sólo dependieron de la temperatura de almacenamiento. En promedio, las manzanas frescas cortadas presentaron 8,0±0,8 en crujencia y 7,7±0,9 en jugosidad, durante el almacenamiento a 2°C y 7,4±1,0 en crujencia y 7,1±1,0 en jugosidad, durante el almacenamiento a 10°C. Por lo tanto, las manzanas almacenadas a 2°C mantuvieron una mayor jugosidad y crujencia en ambas muestras, que aquellas almacenadas a 10°C. Varela et al. (2005) almacenaron manzanas ‘Fuji’ frescas a 20°C durante 28 días y no obtuvieron diferencias significativas en la jugosidad con el tiempo, sin embargo la crujencia disminuyó con el tiempo.

La astringencia fue independiente de los tres factores estudiados (tratamiento, tiempo y temperatura de almacenamiento). El promedio obtenido para todas las muestras en este atributo fue 1,5±0,8, es decir, fue apenas perceptible.

3.3.5.4. Recuentos microbiológicos

Las frutas y hortalizas pueden ser una buena fuente de nutrientes para el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. La microecología de los productos frescos debe ser especialmente considerada, porque estos productos pueden cambiar el microambiente a través de su actividad metabólica. La microflora comúnmente encontrada en frutas y hortalizas incluye *Pseudomonas* spp., *Erwinia herbicola*, *Enterobacter agglomerans*, bacterias ácido lácticas y mohos y levaduras y varía mucho para cada producto (dependiendo del pH del medio, disponibilidad de nutrientes, actividad de agua) y condiciones de almacenamiento, entre otros factores. La temperatura puede desempeñar un rol importante en la carga microbiana, en frutas y hortalizas refrigeradas predominan los microorganismos psicrotrofos sobre los mesófilos (Ayala-Zavala et al., 2008).

Tabla 3.62. Planes de muestro para frutas y hortalizas frescas cortadas listas para consumir.

Parámetro	n	C	M	M	Referencia
<i>E. coli</i>	5	2	100 UFC/g	1000 UFC/g	Reglamento (CE) N° 2073/2005
<i>E. coli</i>	5	0	< 0,3 NMP/g	--	
<i>Salmonella</i> spp	5	0	Ausencia en 25 g	--	Código Alimentario Argentino
<i>E. coli</i> O157:H7/NM	5	0	Ausencia en 25 g	--	
AMT	5	1	$5 \cdot 10^4$ UFC/g	$5 \cdot 10^5$ UFC/g	
Enterobacteriaceas	5	1	$5 \cdot 10^3$ UFC/g	$5 \cdot 10^4$ UFC/g	Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile
<i>E. coli</i>	5	1	10	10^2	
<i>S. aureus</i>	5	1	10	10^2	
<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 25 g	--	

n= número de unidades de la muestra, c= número de unidades de la muestra a las que se le permiten un recuento entre m y M. AMT: aerobios mesófilos totales.

En la Tabla 3.62 se presentan los límites microbiológicos establecidos para frutas y hortalizas mínimamente procesadas en el Código Alimentario Argentino, Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile y el Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión de la Unión Europea, en un plan de muestreo. Las muestras no pueden contener ninguna unidad con un recuento mayor a M ni un número de muestras superior a c con un recuento entre m y M , para el parámetro correspondiente.

♦ Aerobios mesófilos totales

El crecimiento de aerobios mesófilos totales (AMT) obtenido durante el almacenamiento a 2 y 10°C se puede observar en la Figura 3.91.

El recuento inicial de AMT para las muestras control (C) fue de 0,97 log UFC/g y alcanzó 4,00 log UFC/g al final del almacenamiento a 2°C (día 18) y 4,98 log UFC/g al final del almacenamiento a 10°C (día 15).

Para las manzanas tratadas se obtuvieron recuentos iniciales de 1,66 log UFC/g, que llegaron a 4,61 log UFC/g al día 18 a 2°C y 4,55 log UFC/g al día 15 a 10°C. Wu et al. (2012) analizaron manzanas 'Fuji' frescas cortadas tratadas con 0,5% ácido ascórbico, 0,5% ácido cítrico y 0,5% cloruro de calcio y obtuvo valores para aerobios mesófilos totales de 1,2 log UFC/g al día 0 y 5,6 log UFC/g, luego de 14 días de almacenamiento a 4°C, que son similares a los obtenidos en el presente estudio.

Si bien las manzanas tratadas presentaron recuentos iniciales ligeramente superiores a los presentados en las manzanas sin tratar, al final del almacenamiento tanto a 2 como a 10°C, ambas muestras presentan recuentos del mismo orden de magnitud.

En la Figura 3.91 se observa que las tendencias de crecimiento de AMT fueron similares en ambas muestras, sin embargo hay diferencias entre las tendencias obtenidas a 2 y 10°C. Mientras a 2°C el recuento de AMT se mantiene constante hasta el día 15 (Figura 3.91a), a 10°C se observa un crecimiento paulatino de aerobios mesófilos totales desde el inicio del almacenamiento (Figura 3.91b).

De acuerdo al Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, ninguna unidad dentro de la muestra puede superar un nivel de 5×10^5 UFC/g en AMT (Tabla 3.62). Como se puede observar en la Figura 3.90 ninguna de las muestras (C o T) superó este límite máximo luego de 18 días a 2°C o 15 días a 10°C.

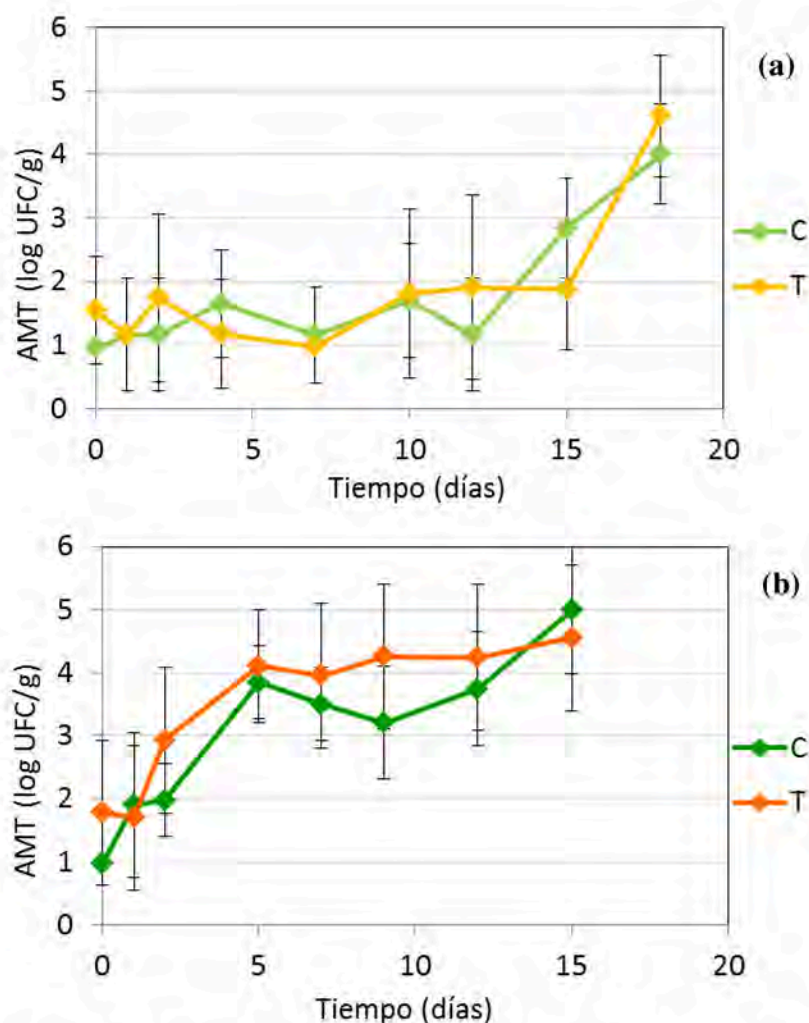


Figura 3.91. Aerobios mesófilos totales (AMT) de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras de error representan la desviación estándar.

♦ Psicrotrofos

La Figura 3.92 presenta los recuentos de los microorganismos psicrotrofos de manzanas frescas cortadas tratadas (T) y sin tratar (C) obtenidos durante el almacenamiento a 2°C y 10°C.

Al igual que en el caso de los aerobios mesófilos totales, se obtuvieron tendencias de crecimiento de psicrotrofos similares entre las muestras C y T. Los comportamientos a las distintas temperaturas también se asemejan a los obtenidos para AMT, mientras que a 2°C el recuento de psicrotrofos es prácticamente constante hasta el día 15 de almacenamiento, a 10°C el crecimiento ocurre desde el comienzo del almacenamiento.

Al día 0, las manzanas sin tratamiento (C) presentaron niveles de psicrotrofos de 0,95 log UFC/g, en promedio, y este nivel se incrementó hasta 3,51 y 3,73 log UFC/g, al final del almacenamiento a 2 y 10°C, respectivamente.

Por otro lado, las manzanas tratadas (T) presentaron recuentos de psicrotrofos de 1,05 log UFC/g en promedio al día 0 y alcanzaron recuentos de 4,50 log UFC/g al día 18 a 2°C y 4,21 al día 15 a 10°C. El recuento inicial de psicrotrofos obtenido por Wu et al. (2012) para manzanas 'Fuji' frescas cortadas tratadas con 0,5% ÁA+0,5% ÁC +0,5% CaCl₂ fue similar (1,5 log UFC/g), pero al cabo de 14 días a 4°C obtuvieron un mayor crecimiento (6,3 log UFC/g).

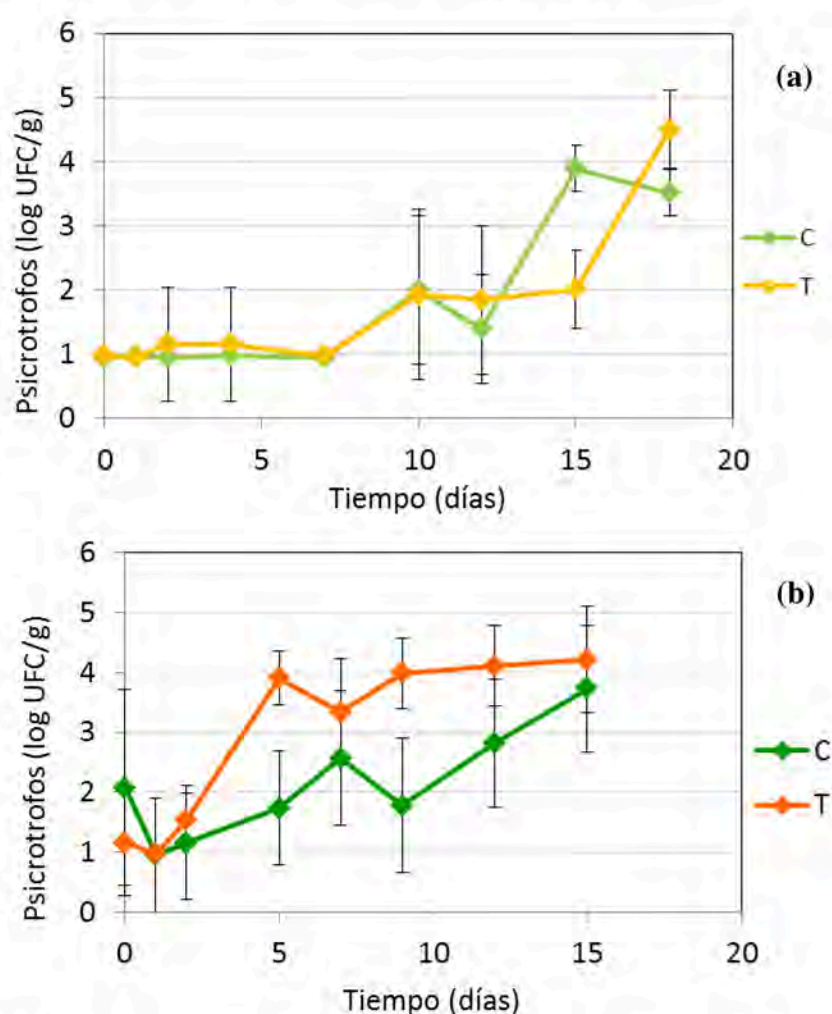


Figura 3.92. Microorganismos psicrotrofos de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b).

Las barras representan la desviación estándar.

◆ Mohos

A 10°C, los recuentos de mohos se mantuvieron constantes tanto para C como para T, a lo largo de todo el almacenamiento. Los niveles de mohos de las muestras C a 10°C, variaron entre 0,95 y 1,2 log UFC/g y los de las muestras T entre 0,95 y 1,5 log UFC/g (Figura 3.93b).

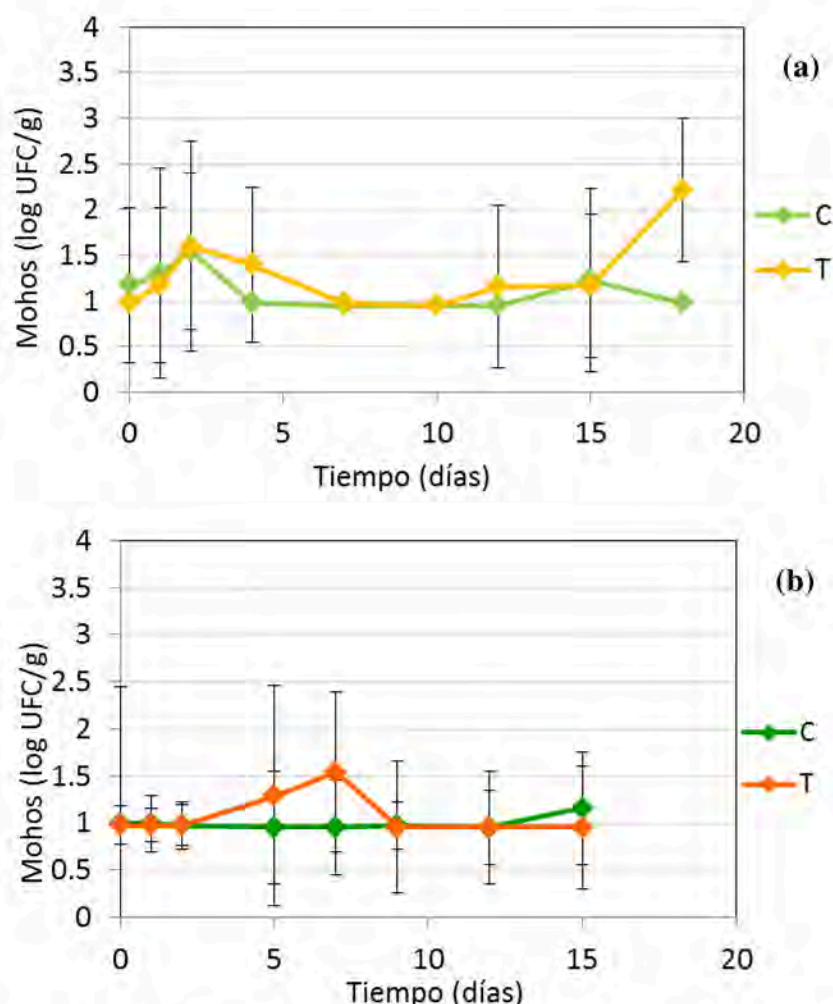


Figura 3.93. Mohos de manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras representan la desviación estándar.

A 2°C se observa un incremento en los recuentos de mohos entre los días 0 y 2, tanto para C como para T, pero que no es estadísticamente significativo (Figura 3.93a). Posteriormente el recuento de mohos se mantiene constante hasta el final del almacenamiento, en el caso de C y hasta el día 15, en el caso de T, ya que ésta muestra presenta crecimiento de mohos al día 18. El recuento de mohos en las muestras C, durante el almacenamiento a 2°C, varió entre 0,95 y 1,54 log UFC/g, mientras que el de las muestras T lo hizo entre 0,95 y 2,22 log UFC/g, correspondiendo el valor máximo al crecimiento observado en el día 18.

◆ Levaduras

En la Figura 3.94a se observa que no hay diferencias en los recuentos de levaduras de las muestras C y T, a lo largo del almacenamiento a 2°C. El crecimiento de las levaduras es muy paulatino y entre los días 0 y 15 los niveles para ambas muestras se encuentra entre 0,95 y 1,85 log UFC/g, mientras que al día 18 se obtuvo un recuento de 2,85 y 2,84 UFC/g para C y T, respectivamente.

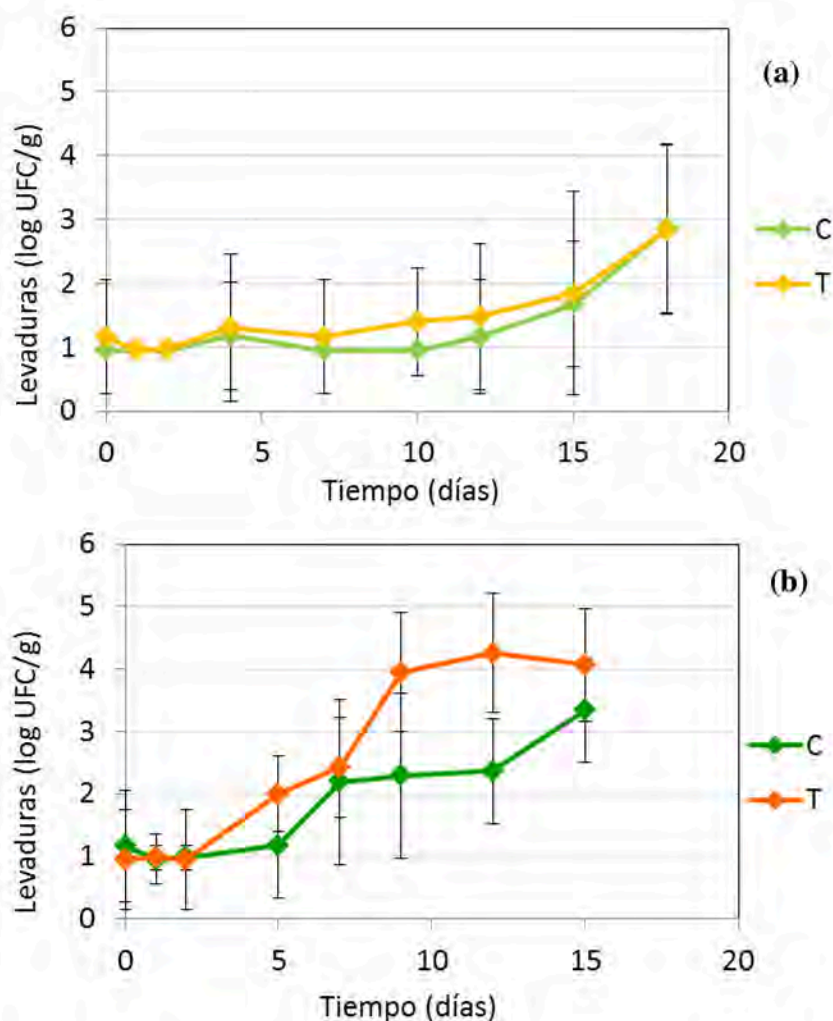


Figura 3.94. Levaduras de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras de error representan la desviación estándar.

En el caso del almacenamiento a 10°C (Figura 3.94b) los niveles de levaduras en las manzanas sin tratar se mantienen constantes hasta el día 5 y a partir de ese día se observa un crecimiento sostenido hasta el final del almacenamiento. Por otro lado, los recuentos de levaduras en las muestras tratadas se mantienen constantes hasta el día 2 inclusive y a partir de este día se observa crecimiento.

3.3.5.5. Composición gaseosa

En la Figura 3.95a se presenta la variación en las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono dentro del envase, a lo largo del almacenamiento a 2°C. A 2°C se observa que la concentración de oxígeno dentro de los envases se mantiene igual para ambas muestras hasta el día 2 inclusive y a partir de este día se observa que el nivel de O₂ dentro del envase de las manzanas tratadas es inferior que el de aquellas sin tratar. Asimismo, se puede apreciar en ambas muestras que la concentración de oxígeno desciende lentamente hasta el final del almacenamiento (Figura 3.95a).

En el caso del almacenamiento a 10°C (Figura 3.95b) los niveles de O₂ dentro de los envases de ambas muestras son iguales en los días 0 y 1 y desde el día 2 en adelante las muestras T presentan una menor concentración de oxígeno. Se observa un descenso en la concentración en el día 1 de almacenamiento tendiendo a estabilizarse a partir de los 7 días para las muestras C y de los 9 días para las muestras T (Figura 3.95b).

La concentración inicial de O₂ en ambas muestras fue de 21,1% (concentración de oxígeno en el aire), C alcanzó una concentración final de 18,6% a 2°C y 15,6% a 10°C y T una de 17,7% a 2°C y 13,7% a 10°C.

En cuanto a las concentraciones de CO₂, se observa a ambas temperaturas que hasta el día 1 ambas muestras presentan la misma concentración de CO₂ y que, a partir de ese día T presenta mayor concentración de dióxido de carbono. A 2°C (Figura 3.95a), la concentración de CO₂ en C y T aumenta lentamente hasta alcanzar una concentración final de 2,6% para C y 4,0% para T, luego de 18 días. Por otro lado, a 10°C (Figura 3.95b) se observa un incremento de CO₂ en ambas muestras a lo largo del almacenamiento, que es mayor en las manzanas T.

Inicialmente, ambas muestras presentaron 0,032% de CO₂ (concentración de dióxido de carbono en el aire). En el caso de las manzanas sin tratar al final del almacenamiento a 2°C la concentración de dióxido de carbono fue de 2,6%, mientras que a 10°C fue de 5,3%. A su vez, el porcentaje final de CO₂ en los envases que contenían las manzanas tratadas fue de 4,0 y 11,7%, al final del almacenamiento a 2 y 10°C, respectivamente.

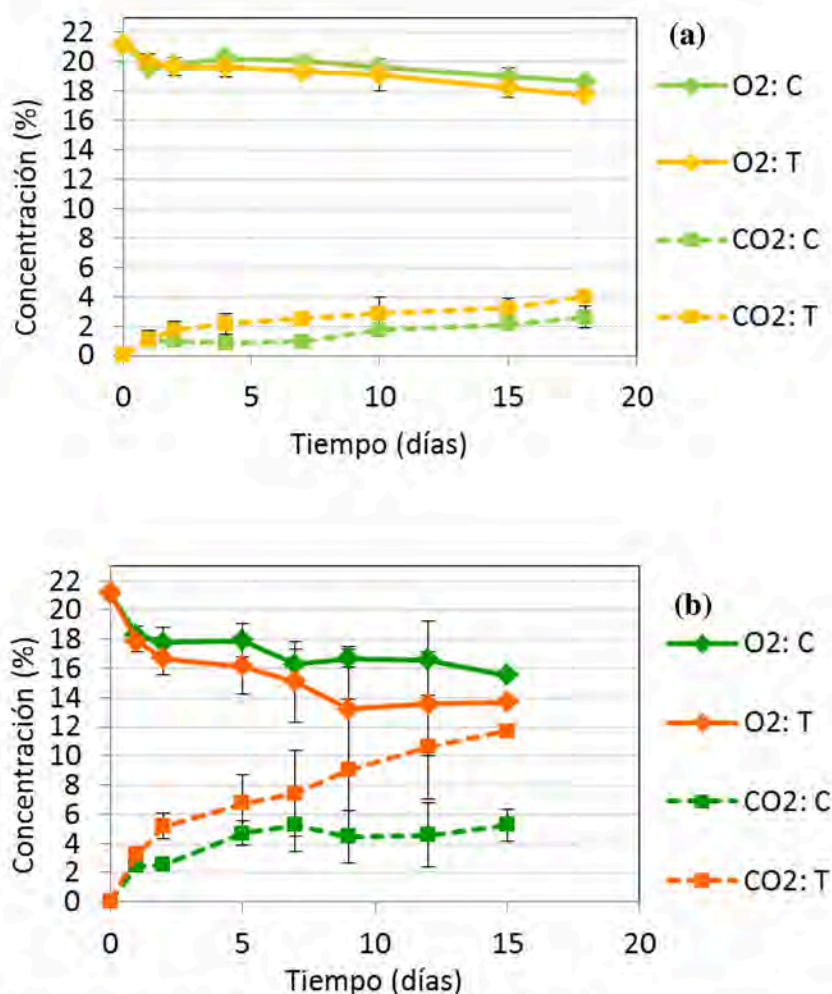


Figura 3.95. Concentración de oxígeno y dióxido de carbono en envases con manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con solución antioxidante (T) y sin tratar (C), durante el almacenamiento a 2°C (a) y 10°C (b). Las barras representan la desviación estándar.

Comparando la composición gaseosa de los envases a las dos temperaturas de almacenamiento estudiadas (Figuras 3.95 a y b), se puede concluir que la tasa respiratoria a 10°C es claramente mayor que la de las manzanas a 2°C. Esto se ve reflejado en un descenso más marcado de la concentración de O₂ y un incremento más marcado en la concentración de CO₂, en el almacenamiento a 10°C que en aquel a 2°C. Asimismo, las concentraciones finales de oxígeno fueron más bajas y las de dióxido de carbono más altas el último día del almacenamiento a 10°C que en el último día a 2°C, tanto en los envases de las manzanas tratadas como en los de aquellas sin tratar.

En cuanto a las diferencias en las composiciones gaseosas de los envases de las distintas muestras, se observa que al final del almacenamiento T presentó una mayor concentración de CO₂ y una menor concentración de O₂ que C, tanto a 2 como a 10°C. Estos resultados pueden

explicarse tanto por un posible aumento en la velocidad respiratoria como por el consumo de oxígeno que ocurre durante la oxidación del ácido ascórbico. Rojas-Graü et al. (2007) compararon la composición gaseosa de los envases de rodajas de manzana ‘Fuji’ tratadas con una solución de 1% de N-acetilcisteína o 1% de ácido ascórbico, almacenadas a 4°C durante 43 días, en atmósfera de aire o de 2,5% O₂+7% O₂+90,5% N₂ y encontraron que las muestras tratadas con ÁA y almacenadas en atmósfera de aire consumieron el oxígeno del espacio de cabeza mucho más rápido que las tratadas con N-acetilcisteína. A su vez, Gil et al. (1998) compararon el efecto del tratamiento con ácido ascórbico en rodajas de manzanas ‘Fuji’ almacenadas en aire y en atmósfera libre de O₂ y encontraron que el tratamiento con ácido ascórbico aumentó la tasa respiratoria de las manzanas almacenadas en aire, mientras que la disminuyó cuando se utilizaba atmósfera de 0% O₂.

3.3.5.6. Correlaciones entre las distintas respuestas estudiadas

Para comprender las relaciones entre los distintos parámetros estudiados se realizó un análisis de correlaciones de Pearson. El coeficiente de correlación de Pearson es un índice que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente (Nieves Hurtado y Domínguez Sánchez, 2010). En la Tabla 3.63 se presentan los coeficientes de correlación obtenidos entre los parámetros apariencia general, pardeamiento, pH, polifenoles totales, ácido ascórbico, ácido ascórbico total, capacidad antioxidante por los métodos del radical DPPH* y FRAP y parámetros instrumentales de color: L*, a*, b*, C_{ab}* y h_{ab}.

De acuerdo a los coeficientes de correlación obtenidos y su significancia, se puede establecer que la apariencia general es mayor a medida que aumentan la luminosidad de la fruta (L*) y el h_{ab}, y a medida que disminuyen la cromaticidad (C_{ab}*, a* y b*) y el pardeamiento (Tabla 3.63).

A su vez, la apariencia general presenta una correlación positiva y altamente significativa (p<0,001) con el ácido ascórbico y el ácido ascórbico total, y una correlación significativa (p<0,01) positiva con los polifenoles totales y la capacidad antioxidante por DPPH*, y negativa con el pH (Tabla 3.63).

El atributo pardeamiento correlaciona con los mismos parámetros que la apariencia general. El pardeamiento disminuye a medida que el pH disminuye y cuando aumentan los contenidos de ácido ascórbico, polifenoles totales y la capacidad antioxidante. Cocci et al. (2006) determinaron correlaciones de Pearson entre diversos parámetros de manzanas mínimamente procesadas y, al igual que en el presente estudio, obtuvieron correlaciones

significativas negativas entre el área de pardeamiento (medida en %) y el contenido de ácido ascórbico ($p < 0,05$), el contenido de polifenoles totales ($p < 0,001$) y la capacidad antioxidante por el método del DPPH* ($p < 0,05$).

Se obtuvieron correlaciones positivas y altamente significativas ($p < 0,001$) entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante por los métodos de FRAP y del radical DPPH*, y con el ácido ascórbico y ácido ascórbico total. La correlación positiva entre los polifenoles y la capacidad antioxidante se explica por la alta actividad antioxidante de estos compuestos, mientras que la correlación significativa y positiva con el ácido ascórbico puede deberse a que la presencia de ácido ascórbico evita la oxidación de los polifenoles. En la misma línea, Cocci et al. (2006) obtuvieron correlaciones significativas ($p < 0,05$) y positivas entre los polifenoles totales y la capacidad antioxidante por DPPH* y el ácido ascórbico.

Tanto el ácido ascórbico como el ácido ascórbico total presentaron coeficientes de correlación muy similares. Al aumentar su concentración, aumenta la capacidad antioxidante por los dos métodos utilizados, así como los parámetros L^* y h_{ab} , mientras que disminuyen los parámetros a^* , b^* y C_{ab}^* . El coeficiente de correlación entre el ácido ascórbico y la capacidad antioxidante por DPPH* obtenida por Cocci et al. (2006) fue altamente significativo ($p < 0,001$), similarmente a lo obtenido en este estudio tanto para ÁA como para ÁAT.

En cuanto a la capacidad antioxidante, se obtuvo una correlación positiva y significativa entre ambos métodos. El método de FRAP sólo correlacionó significativamente con el contenido de ácido ascórbico, ácido ascórbico total y polifenoles totales, además del AEAC, como se mencionó anteriormente. Por otro lado, la capacidad antioxidante por DPPH* (AEAC) aumentó con la concentración de polifenoles, ácido ascórbico, ácido ascórbico total y a su vez correlaciona positivamente con los parámetros L^* y h_{ab} , y negativamente con a^* , b^* y C_{ab}^* .

Los parámetros firmeza, sólidos solubles, gusto ácido, flavor característico, astringencia, off-flavors, jugosidad, crujencia y off-odors también se incluyeron en el análisis de correlaciones. La firmeza, sólidos solubles, gusto ácido y astringencia no presentaron ninguna correlación significativa ($p > 0,05$). El flavor característico sólo presentó una correlación significativa con el pH ($R = 0,50^{**}$) y los off-flavors sólo correlacionaron significativamente con los off-odors ($R = 0,79^{***}$). Por otro lado, la jugosidad correlacionó positivamente con la apariencia general ($R = 0,50^{**}$) y la crujencia ($R = 0,62^{**}$) y negativamente con el pardeamiento ($R = -0,55^{**}$). La crujencia y los off-odors sólo presentaron correlaciones significativas con la jugosidad y los off-flavors, respectivamente.

Tabla 3.63. Coeficientes de correlación entre los parámetros estudiados.

	Apariencia general	Pardeamiento	pH	PT	ÁA	ÁAT	AEAC	FRAP	L*	a*	b*	C _{ab} *
Apariencia general	—											
Pardeamiento	-0,95***	—										
pH	-0,46**	0,45**	—									
PT	0,49**	-0,44*	NS	—								
ÁA	0,79***	-0,77***	-0,54**	0,78***	—							
ÁAT	0,78***	-0,77***	-0,54**	0,79***	1,00***	—						
AEAC	0,49**	-0,45**	NS	0,77***	0,63***	0,64***	—					
FRAP	NS	NS	NS	0,60***	0,53***	0,54**	0,39*	—				
L*	0,91***	-0,88***	NS	0,43**	0,76***	0,76***	0,38**	NS	—			
a*	-0,91***	0,89***	NS	-0,40**	-0,76***	-0,76***	-0,40*	NS	-0,99***	—		
b*	-0,88***	0,87***	NS	-0,43**	-0,73***	-0,74***	-0,41*	NS	-0,92***	0,94***	—	
C_{ab}*	-0,88***	0,87***	NS	-0,42**	-0,72***	-0,73***	-0,40*	NS	-0,92***	0,95***	1,00***	—
h_{ab}	0,93***	-0,91***	NS	0,45*	0,81***	0,81***	0,43*	NS	0,99***	-0,99***	-0,93***	-0,93***

PT: polifenoles totales (mg AGE/100g), ÁA: ácido ascórbico (mg/100g), ÁAT: ácido ascórbico total (mg/100g), AEAC: capacidad antioxidante por el método del radical DPPH* (mg ÁAe/100g), FRAP: capacidad antioxidante por el método de FRAP (μmoles Fe/100g).

NS: no significativo, *: significativo p<0,05, **: significativo p<0,01, ***: significativo p<0,001.

3.3.6. Ensayo de aceptabilidad

La aceptabilidad sensorial de manzanas frescas cortadas tratadas con soluciones antioxidantes ha sido estudiada previamente por algunos autores (Rocha y Morais, 2003; Raybudi-Massilia et al., 2007; Giacalone y Chiabrande, 2013), pero no se han encontrado reportes sobre el efecto de la aplicación de infusiones de yerba mate sobre la aceptabilidad de estos productos. Es por esto que se realizó una evaluación sensorial con 98 consumidores habituales de manzana, quienes probaron las manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante propuesta [1,2% YM+0,9% ÁC+1,0% ÁA], luego de 24 horas de procesadas y almacenadas en cámara a 2°C. Los consumidores evaluaron el color, sabor, textura y agrado general de las muestras en una escala hedónica estructurada de 9 puntos y, además, respondieron si comprarían un producto similar.

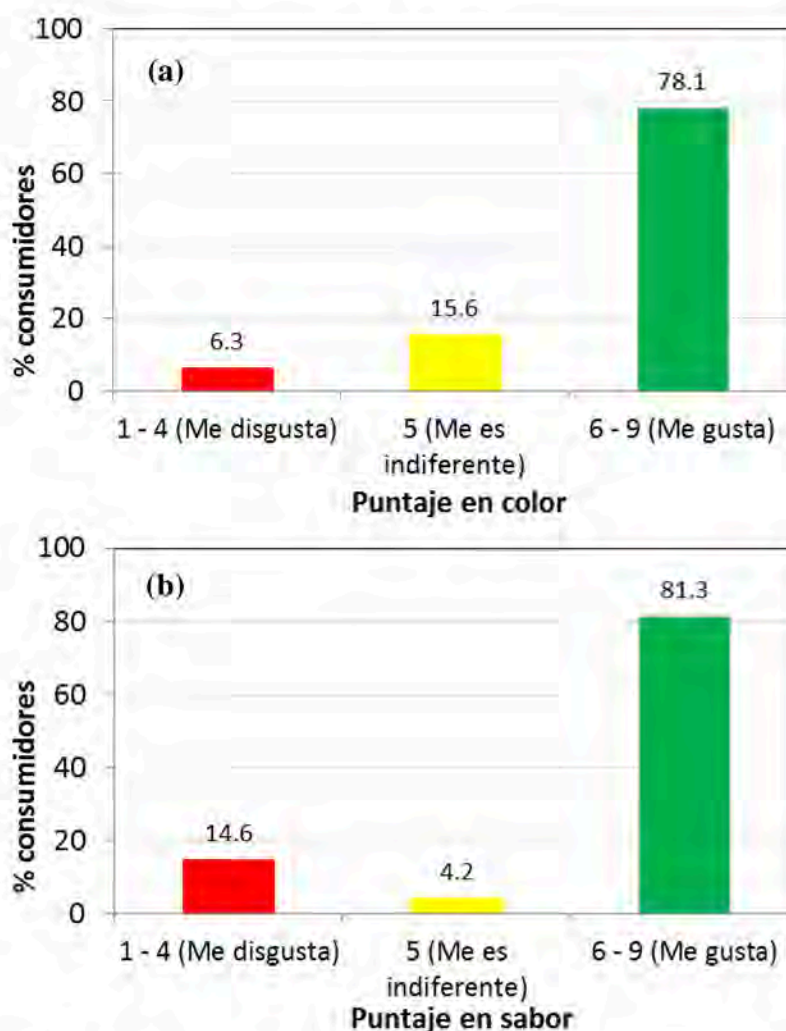


Figura 3.96. Gráficos de frecuencia de aceptabilidad de la muestra T en los atributos color (a) y sabor (b).

En la Figura 3.96 y 3.97 se presentan los gráficos de frecuencia para los puntajes obtenidos en los atributos color, sabor, textura y agrado general, que fueron agrupados dependiendo de si al consumidor le gustó la muestra (puntaje entre 6 y 9), le resultó indiferente (puntaje de 5) o no le gustó la muestra evaluada (puntaje entre 1 y 4). En líneas generales se puede afirmar que a más del 78% de los consumidores le gustó globalmente la muestra tratada, así como su color, sabor y textura.

Las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas y tratadas con la solución antioxidante propuesta fueron especialmente valoradas por su textura, ya que fue el atributo al que el mayor número de consumidores (89,6%) le asignó un puntaje superior a 5 y a su vez fue el atributo al que el menor número de consumidores (5,2%) le asignó un puntaje inferior a 5 (Figura 3.97).

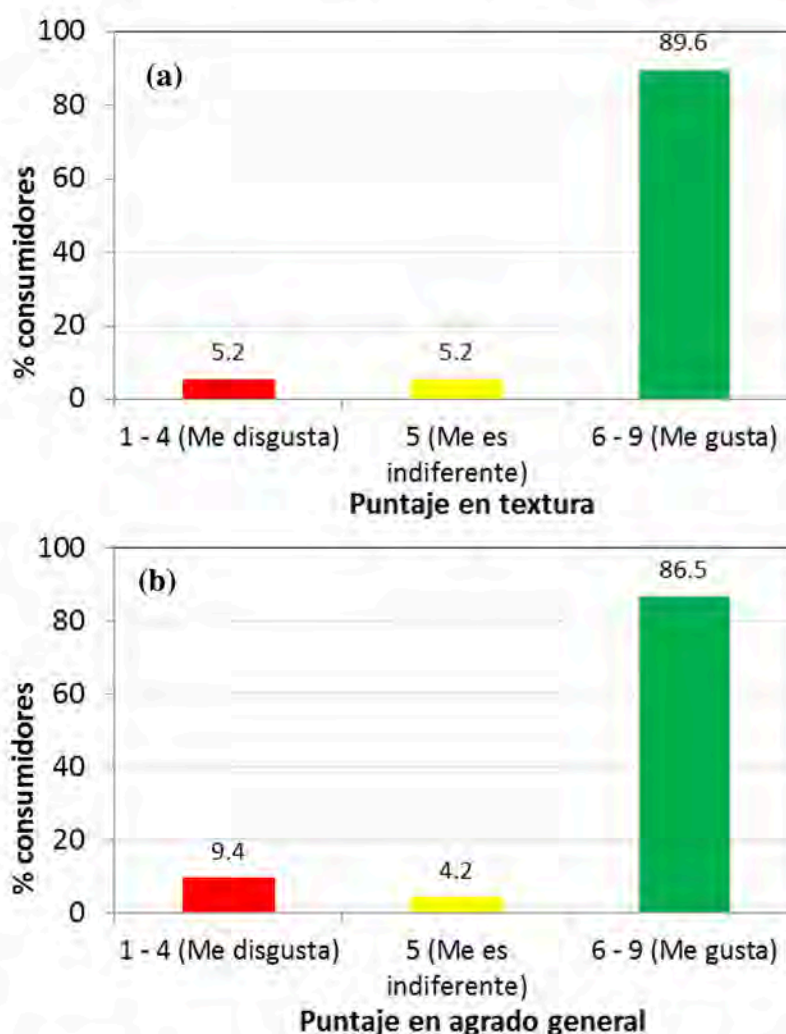


Figura 3.97. Gráficos de frecuencia de aceptabilidad de la muestra T en los atributos textura (a) y agrado general (b).

En promedio, las manzanas tratadas obtuvieron un puntaje de $7,0 \pm 1,7$ en color, $6,8 \pm 1,9$ en sabor, $7,5 \pm 1,6$ en textura y $7,1 \pm 1,6$ en agrado general. En cuanto a la intención de compra, el 89,5% de los evaluadores respondió que compraría un producto similar.

Las manzanas tratadas obtuvieron puntajes promedio superiores a 6 en los cuatro atributos evaluados, es decir, a los consumidores les gustó el producto elaborado con la solución antioxidante propuesta. El hecho de que los consumidores evaluaron positivamente las muestras en todos los atributos sugiere que el tratamiento químico fue exitoso en evitar el pardeamiento de las manzanas (alto puntaje en color), sin perjudicar el sabor y la textura. Esto se tradujo en una buena consideración general de las muestras (7,1 en agrado general, en promedio) y una muy elevada intención de compra.

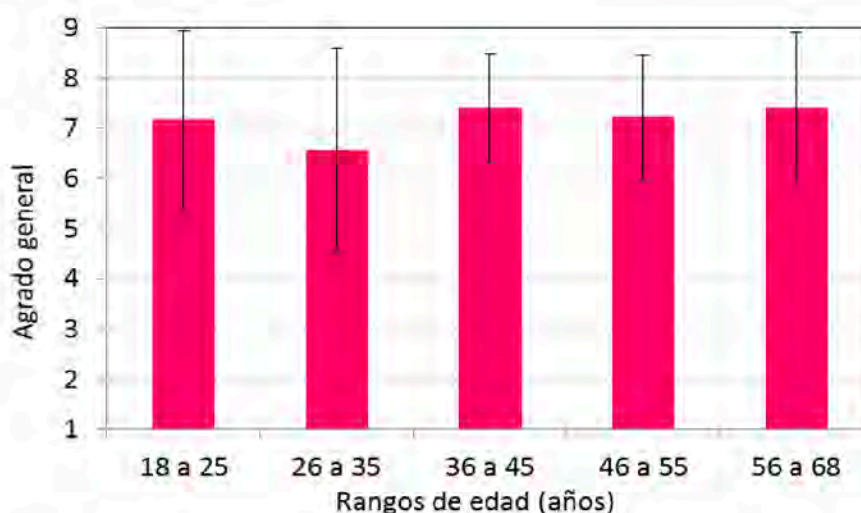


Figura 3.98. Puntajes promedio de agrado general de la muestra T por franja etaria. Las barras representan la desviación estándar.

La aceptabilidad obtenida para las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con la solución de YM+ÁC+ÁA es considerablemente alta (7,1), en comparación con los resultados obtenidos por otros autores para manzanas frescas cortadas sometidas a diferentes tratamientos químicos. Giacalone y Chiabrando (2013) obtuvieron puntajes de entre 1,89 y 1,96, sobre un total de 5, para manzanas ‘Golden Delicious’ frescas cortadas tratadas con distintas soluciones antioxidantes (Nourseal, 1% ÁC+1% propionato de calcio y 1% ÁC+ 1% cloruro de calcio), el día del procesamiento. Raybudi-Massilia et al. (2007) estudiaron las características sensoriales de manzanas ‘Fuji’ frescas cortadas tratadas con dos soluciones: [1% N-acetil-L-cisteína+1% glutatión reducido+1% lactato de calcio pentahidratado] y [1% N-acetil-L-cisteína+1% glutatión reducido + 1% lactato de calcio pentahidratado + 2,5% ácido D-L-málico], el día de su procesamiento. En el sabor obtuvieron resultados de entre 5 y 6 puntos,

en una escala hedónica de 10 puntos, que es inferior al obtenido en el presente estudio (6,8 en escala de 9 puntos).

Por otro lado, Varela et al. (2005) evaluaron la aceptabilidad de manzanas ‘Fuji’ peladas y cortadas en cubos de 1,5 cm de lado sin tratamiento químico y obtuvieron un puntaje promedio en agrado general de 6,0 en una escala hedónica igual a la utilizada en el presente estudio.

No se detectó diferencia significativa ($p>0,05$) en los puntajes asignados a los distintos atributos evaluados ni en la intención de compra, entre sexo o franja etaria. En la Figura 3.98 se grafican los promedios de agrado general, según edad del evaluador.

Como se observa en la Figura 3.98, el agrado general de la muestra fue independiente de la edad del evaluador y todas las franjas etarias asignaron un puntaje superior a 6,5 a las manzanas tratadas.

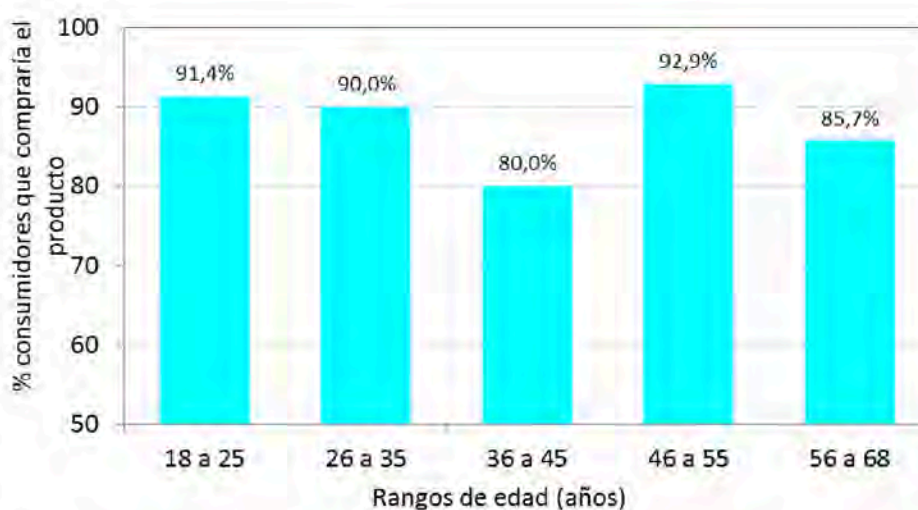


Figura 3.99. Intención de compra de la muestra T por franja etaria. Las barras representan la desviación estándar.

En la Figura 3.99 se grafica el porcentaje de consumidores que contestó que compraría este producto, por franja etaria. Es necesario tener en cuenta que los consumidores respondieron la pregunta basándose únicamente en la percepción que tuvieron de la muestra al observarla y probarla, sin manejar factores relevantes al momento de la compra como precio, envase, composición nutricional, ingredientes o vida útil. De acuerdo a los resultados obtenidos, la muestra tuvo una intención de compra elevada a todas las edades encuestadas. Los consumidores de entre 46 y 55 años fueron los que manifestaron que comprarían este producto

en mayor porcentaje (92,9%), mientras que la menor intención de compra se obtuvo para el grupo de consumidores de entre 36 y 45 años, aunque de todas formas el porcentaje de personas de esa franja etaria que manifestó interés en comprar un producto similar fue considerablemente alto (80%).

4. Conclusiones

4. CONCLUSIONES

4.1. Respecto de las variedades de manzanas

- Se determinaron los atributos fisicoquímicos de cinco variedades de manzanas con distintos requerimientos de horas de frío ('Caricia', 'Eva' y 'Princesa', de bajo requerimiento de horas de frío; y 'Granny Smith' y 'Red Delicious' de alto requerimiento de horas frío).

Las variedades 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa' tienen pesos y tamaños significativamente menores que 'Granny Smith' y 'Red Delicious'. Todas las variedades presentaron un contenido de sólidos solubles similar (13,6°Brix). Las manzanas 'Granny Smith' y 'Red Delicious' presentaron el menor y mayor valor de pH, 3,31 y 4,08, respectivamente. En cuanto a la firmeza de la pulpa, las variedades 'Caricia' y 'Red Delicious' fueron significativamente menos firmes que 'Granny Smith'. El mayor contenido de polifenoles totales se obtuvo para 'Red Delicious', aunque no difiere significativamente de los valores correspondientes a 'Princesa' y 'Caricia'. Por otro lado, 'Eva' presentó el menor nivel de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

4.2. Respecto de la aplicación de tratamientos térmicos suaves

- Se determinaron los perfiles de temperatura durante el calentamiento en baño de agua con agitación a 40, 45 y 50°C y el enfriamiento en cámara refrigerada a 1,5°C de las cinco variedades de manzanas, y se obtuvieron los correspondientes tiempos de semienfriamiento. Los tiempos de semienfriamiento obtenidos para 'Caricia', 'Eva' y 'Princesa' variaron entre 44 y 55 min (diámetros: 5,8-6,8 cm); siendo mayores los obtenidos para 'Granny Smith' y 'Red Delicious' (entre 72 y 75 min para diámetros: 8,4-8,5 cm). En las condiciones en que se realizaron los ensayos, el tiempo de semienfriamiento sólo depende de las dimensiones y propiedades térmicas del producto.
- Se realizaron ensayos preliminares para evaluar la respuesta de las cinco variedades de manzanas a la aplicación de tratamientos térmicos suaves. Se determinó que el tratamiento térmico suave aplicado a las variedades 'Red Delicious' y 'Granny Smith' redujo la firmeza (67,2 y 13,8%, respectivamente), el contenido de polifenoles totales (46,1% y 12,6%, respectivamente) y produjo pardeamiento de la pulpa. Sin embargo, generó un incremento del contenido de compuestos polifenólicos en las otras tres variedades de manzanas

(‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’). Además, para estas tres variedades se obtuvieron valores más altos de firmeza y/o menor desarrollo de pardeamiento enzimático

De acuerdo a estos resultados, se seleccionaron las tres variedades regionales (‘Caricia’, ‘Eva’ y ‘Princesa’) para modelar el efecto del tiempo y la temperatura del tratamiento térmico sobre las características fisicoquímicas y contenido de polifenoles totales de manzanas frescas cortadas, luego de uno y siete días de realizado cada tratamiento.

- Los resultados obtenidos a las 24 horas de realizado cada tratamiento térmico indican que el efecto de los mismos dependieron de la variedad de manzana.

Para la variedad ‘Caricia’ lograron modelarse los porcentajes de retención de pH, sólidos solubles, firmeza y polifenoles, además de los porcentajes de ∂a^* , ∂b^* y ∂C_{ab}^* . Para la variedad ‘Eva’ se obtuvieron modelos para los porcentajes de retención de pH, acidez y firmeza. Por último, para la variedad ‘Princesa’ se obtuvieron modelos para los porcentajes de ∂L^* , ∂b^* y ∂C_{ab}^* .

Se encontró que la retención de firmeza de manzanas ‘Caricia’ tratadas a baja temperatura (40-45°C), es independiente del tiempo de calentamiento, mientras que a altas temperaturas ésta disminuye conforme el tiempo de calentamiento aumenta. Para ‘Eva’ la temperatura no influyó significativamente sobre la firmeza pero ésta descendió con el aumento del tiempo de calentamiento. Los tratamientos realizados a los menores tiempos (20-50 min) producen incrementos de 3 a 8% en la firmeza de Eva. En el caso de ‘Princesa’, ningún factor afectó significativamente su firmeza.

El tratamiento térmico fue efectivo en reducir el pardeamiento enzimático de manzanas variedad ‘Eva’, evaluado luego de 24 horas.

Se obtuvo un incremento en el contenido de polifenoles totales de las tres variedades estudiadas, a las 24 horas de realizado el tratamiento térmico.

- Los resultados obtenidos luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, indican que las tres variedades de manzanas estudiadas volvieron a presentar distintos comportamientos.

En el caso de ‘Caricia’ y ‘Princesa’, los tratamientos térmicos no incrementaron la firmeza, redujeron el pardeamiento enzimático ni aumentaron el contenido de polifenoles totales.

Por otro lado, los tratamientos térmicos suaves por inmersión en agua entre 40 y 50°C durante 20 a 90 minutos, aplicados a 'Eva' lograron aumentar el contenido de polifenoles totales (70%) y reducir el pardeamiento de la pulpa (las manzanas tratadas fueron de color más claro, menos rojo e intenso que las control), aunque redujeron en un 16% la firmeza.

4.3. Respecto de la aplicación de tratamientos químicos

- Se modeló la variación del contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante y los parámetros de color L^* y C_{ab}^* de infusiones de yerba mate (YM), en función de la concentración de carbón activado (CA), a través de un modelo de orden 1 ($n=1$). Se encontró que la aplicación de CA era más efectiva en reducir el contenido de polifenoles de las infusiones de YM que en decolorarlas, por lo que se decidió trabajar con infusiones con concentraciones no mayores de 2% de YM sin decolorar, para aprovechar su máxima concentración de polifenoles y capacidad antioxidante, sin afectar el color de las manzanas.
- La evaluación preliminar de la aplicación de soluciones con infusiones de yerba mate y ácidos cítrico y ascórbico, permitió definir los límites del dominio experimental para estudiar y modelar su efecto sobre la calidad de manzanas 'Granny Smith' frescas cortadas, y optimizar las concentraciones de la solución antioxidante. Se seleccionó el rango de concentraciones: 0 a 2% para YM y 0 a 1% para ácido cítrico y ascórbico, por permitir inhibir el desarrollo de pardeamiento enzimático aportando compuestos bioactivos a las manzanas, sin incrementar las concentraciones habitualmente utilizadas de compuestos sintéticos.
- Se obtuvieron modelos para ΔL^* , Δa^* , gusto ácido, pardeamiento, off-flavors y actividad antioxidante, en función de las concentraciones de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico. No se obtuvieron modelos que ajusten los cambios de pH, Δb^* y ΔC_{ab}^* .
- La metodología de optimización de respuestas múltiples permitió determinar las concentraciones óptimas de una solución acuosa de ácido ascórbico, ácido cítrico y yerba mate, para minimizar pardeamiento, off-flavors, gusto ácido y ΔL^* , y maximizar Δa^* y la actividad antioxidante. Las concentraciones óptimas obtenidas de yerba mate, ácido cítrico y ácido ascórbico fueron: 1,2%; 0,9% y 1,0%, respectivamente. Los modelos obtenidos

fueron validados en el punto óptimo, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los resultados experimentales y los predichos por el modelo.

- La aplicación de una solución con infusión de yerba mate en combinación con ácido cítrico y ácido ascórbico en las concentraciones óptimas a manzanas ‘Granny Smith’ mínimamente procesadas retardó el pardeamiento enzimático sin detrimento de su calidad sensorial, aportando compuestos con actividad antioxidante con potencial beneficio para la salud.
- El mínimo procesamiento realizado a manzanas ‘Granny Smith’ sin tratamiento químico no afectó el pH, la firmeza ni los parámetros instrumentales de color, pero sí generó un descenso significativo del contenido de sólidos solubles y del recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales. En cuanto al potencial saludable, disminuyó el contenido de polifenoles totales, pero no la capacidad antioxidante. No se vieron afectadas las características sensoriales relativas al sabor, la astringencia, crujencia y jugosidad de las muestras, pero sí se obtuvo mejor apariencia general y menor desarrollo de pardeamiento en las manzanas mínimamente procesadas que en la materia prima.

La aplicación de la solución con 1,2% YM; 0,9% ÁC y 1,0% ÁA produjo un incremento del contenido de sólidos solubles y de los parámetros L^* y h_{ab} , y un descenso del parámetro a^* , respecto de las muestras mínimamente procesadas sin tratamiento químico. A su vez, el tratamiento químico produjo una mejora en la apariencia de las manzanas (mayor apariencia general y menor pardeamiento) y generó un incremento significativo del potencial saludable (mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante).

- El almacenamiento a 2 y 10°C no tuvo un efecto significativo sobre el pH, la firmeza, el contenido de sólidos solubles ni el sabor de las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas, tratadas con la solución de [1,2% yerba mate + 0,9% ácido cítrico + 1,0% ácido ascórbico].

Las manzanas tratadas tuvieron menor desarrollo de pardeamiento, mejor apariencia general y mayor contenido de ácido ascórbico y capacidad antioxidante, que aquellas sin tratar, durante 10 días a 2°C y durante 7 días a 10°C. El contenido de polifenoles totales fue superior en las muestras tratadas durante los 18 días a 2°C y durante los 15 días a 10°C.

El almacenamiento a 2°C retrasó el crecimiento microbiológico de aerobios mesófilos totales, psicrotrofos, mohos y levaduras, mientras que el tratamiento químico no lo afectó, pero siempre se obtuvieron recuentos microbiológicos inferiores a los límites establecidos por las Normas.

- El estudio de aceptabilidad realizado sobre las manzanas ‘Granny Smith’ frescas cortadas tratadas con la solución antioxidante determinada demostró que a más del 78% de los consumidores les gustó el color, sabor y textura de las manzanas. Esto sugiere que el tratamiento químico aplicado fue exitoso en evitar el pardeamiento de las manzanas (alto puntaje en color), manteniendo sabor y textura adecuados, lo que se tradujo en una buena consideración general de las muestras y una muy elevada intención de compra (89%).

5. Bibliografía

5. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J.A.; Saftner, R.A.; Gross, K.C.; Vinyard, B.T. y Jasnick, J. (2004). Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji', 'Golden Delicious', 'GoldRush', and 'Granny Smith' apples. *Postharvest Biol. Technol.* 33, 127-140.
- Abreu, M.; Beirão-da-Costa, S.; Gonçalves, E.M.; Beirão-da-Costa, M.L. y Moldão-Martins, M. (2003). Use of mild heat pre-treatments for quality retention of fresh-cut 'Rocha' pear. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 153-160.
- Aguayo, E.; Requejo-Jackman, C.; Stanley, R. y Woolf, A. (2010). Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 52-60.
- Alegre, I.; Viñas, I.; Usall, J.; Anguera, M. y Abadías, M. (2011). Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut Apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol.* 28, 59-66.
- Alegria, C.; Pinheiro, J.; Gonçalves, E.M.; Fernandes, I.; Moldão, M. y Abreu, M. (2010). Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. *Innovative Food Sci. Emerg.* 11, 155-161.
- Alegria, C.; Pinheiro, J.; Duthoit, M.; Gonçalves, E.M.; Moldão-Martins, M. y Abreu, M. (2012). Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C radiation) pre-treatments. *LWT – Food Sci. Technol.* 48, 197-203.
- Allende, A.; Tomás-Barberán, F.A. y Gil, M.I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends Food Sci. Technol.* 17, 513-519.
- Alonso, G. y Chiesa Á. (2009). Hortalizas mínimamente procesadas en los supermercados de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.* Tomo XLI, N°2, 45-47.
- Altisent, R.; Plaza, L.; Alegre, I.; Viñas, I. y Abadías, M. (2014). Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT – Food Sci. Technol.* 58, 541-549.

- Altunkaya, A. y Gökmen, V. (2009). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chem.* 107, 1173-1179.
- Amodio, M.L.; Derossi, A. y Colelli, G. (2014). Modelling phenolic content during storage of cut fruit and vegetables: A consecutive reaction mechanism. *J. Food Eng.* 140, 1-8.
- Anónimo. (2012). State of the industry 2012. Fresh cut. <http://freshcut.com/index.php/magazine/article/15518>. Fecha de acceso: 14/02/2012.
- Ayala-Zavala, J.F.; del Toro-Sánchez, L.; Álvarez-Parrilla, E.; Soto-Váldez, H.; Martín-Belloso, O.; Ruíz-Cruz, S. y González-Aguilar, G.A. (2008). Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruit and vegetables. *Stewart Posthar. Rev.* 4(3), 1-9.
- Balla, C. y Farkas, J. (2006). Minimally processed fruits and fruit products and their microbiological safety. En: *Handbook of fruits and fruit processing*. (Ed. Hui, Y.H.). Blackwell Publishing: Iowa. p. 115-128.
- Benzie, I.F.F. y Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76.
- Bouayed, J.; Hoffmann, L. y Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128, 14-21.
- Box, G.E.P. y Behnken, D.W. (1960). Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics.* 2, 455-476.
- Brand-Williams, M.; Cuvelier, M. E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. Technol.* 28, 25-30.
- Bravo, L.; Goya, L. y Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenols constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res. Int.* 40, 393-405.
- Calvelo, A. (1987). Modelado matemático de la refrigeración de alimentos. En: *Refrigeración y congelación de alimentos*. (Ed. Kasahara, I.). Editora e Imprenta Maval: Santiago de Chile. p. 111-132.

- Cano, M.P.; Sánchez-Moreno, C.; de Pascual-Teresa, S.; de Ancos, B.J.C. (2005). Procesado mínimo y valor nutricional. En: Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. (Eds. González-Aguilar, G.A.; Gardea, A.A. y Cuamea-Navarro, F.). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo: Hermosillo. p. 155-176.
- Cassano, A.; Drioli, E.; Galaverna, G.; Marchelli, R.; Di Silvestro, G. y Cagnasso, P. (2003). Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. *J. Food Eng.* 57(2), 153-163.
- Castañer, M.; Gil, M.; Ruíz, M.V. y Artés, F. (1999). Browning susceptibility of minimally processed Baby and Romaine lettuces. *Eur. Food Res. Technol.* 209, 52-56.
- Castro, D.C.; Favaro, J.C.; Scotta, R. y Gariglio, N. (2014). Manzano. En: Cultivos frutales y ornamentales para zonas templado-cálidas. Experiencia en la zona central de Santa Fe. (Eds.: Gariglio, N.; Bouzo, C. y Travadelo, M.). Universidad Nacional del Litoral: Santa Fe. p. 83-107.
- Ceymann, M.; Arrigoni, E.; Schärer, H.; Nising, A.B. y Hurrell, R.F. (2012). Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. *J. Food Compos. Anal.* 26, 128-135.
- Chandra, S. y Gonzalez de Mejía, E. (2004). Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3583-3589.
- Corbo, M.R.; Altieri, C.; D'Amato, D.; Campaniello, D.; Del Nobile, M.A. y Sinigaglia, M. (2004). Effect of temperature on shelf life and microbial population of lightly processed cactus pear fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 31, 93-104.
- Chung, H. y Moon, K. (2009). Browning characteristics of fresh-cut '*Tsugaru*' apples as affected by pre-slicing storage atmospheres. *Food Chem.* 114, 1433-1437.
- Cisneros-Zevallos, L. (2003). The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 68(5), 1560-1565.

- Cocci, E.; Rocculi, P.; Romani, S. y Della Rosa, M. (2006). Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 265-271.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo XI: Alimentos Vegetales. Artículo 925 quater (Resolución conjunta SPReI N°192/2012 y SAGyP N°799/2012).
- Corollaro, M.L.; Endrizzi, I.; Bertolini, A.; Aprea, E.; Demattè, M.L.; Costa, F.; Biasioli, F. y Gasperi, F. (2013). Sensory profiling of apple: methodological aspects, cultivar characterisation and postharvest changes. *Postharvest Biol. Technol.* 77, 111-120.
- De Belie, N.; Schotte, S.; Coucke, P. y De Baerdemaeker, J. (2000). Development of an automated monitoring device to quantify changes in firmness of apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 18, 1-8.
- DeElle, J.R.; Khanizadeh, S.; Saad, F. y Ferrere, D.C. (2001). Factors affecting apple fruit firmness. A review. *J. Amer. Pomolog. Soc.* 5(1), 8-27.
- Dellacassa, E. y Bandoni, A.L. (2001). El mate. *Revista de Fitoterapia.* 1(4), 269-278.
- Depetris, C.; Bernardi, C. y Piagentini, A.M. (2009). Efecto de la variedad, tratamiento químico y tiempo de almacenamiento sobre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de manzanas frescas cortadas. XVII Jornadas de Jóvenes Investigadores (AUGM). Concordia, Argentina, octubre 2009.
- Derringer, G. y Suich, J. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *J. Qual. Technol.* 12, 214-219.
- Drogoudi, P.D. y Pantelidis, G. (2011). Effects of position on canopy and harvest time on fruit physico-chemical and antioxidant properties in different apple cultivars. *Scientia Horticulturae Amsterdam.* 129, 752-760.
- Filip, R.; Lotito, S.B.; Ferraro, G.; y Fraga, C. (2000). Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutr. Res.* 20(10), 1437-1446.
- García, E. y Barrett, D.M. (2002). Preservative treatments for fresh-cut fruit and vegetables. En: *Fresh-cut fruit and vegetables: science, technology, and market.* (Ed. Lamikanra, O.). CRC Press LLC: Boca Raton. p. 267-297.
- Giocalone, G. y Chiabrando, V. (2013). Effect of different treatments with calcium salts on sensory quality of fresh-cut apple. *J. Food Nutr. Res.* 52(2), 79-86.

- Gil, M.I.; Gorny, J.R. y Kader, A.A. (1998). *Responses of 'Fuji' apple slices to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmospheres*. Hortiscience. 33, 305-309.
- Gómez, P.L.; García-Loredo, A.; Nieto, A.; Salvatori, D.M.; Guerrero, S. y Alzamora, S.M. (2012). Effect of pulsed light combined with an antibrowning pretreatment on quality of fresh cut apple. *Innov. Food Sci. Emerg.* 16, 102-112.
- González-Aguilar, G.A.; Ayala Zavala, F.; Ruiz Cruz, S.; Cruz Valenzuela, R. y Cuamea-Navarro, F. (2004). Estado actual del mercado de frutos y vegetales frescos cortados. Proyecto XI.22 Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. Simposio "Estado actual del mercado de frutos y vegetales frescos cortados en Iberoamérica: III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos". San José, Costa Rica. Abril 2004.
- Gould, W.A. (2013). Physical Evaluation of Color. En: Total quality assurance for the food industries. 3^{era} Edición. CTI Publications, Inc.: Maryland. p. 235-272.
- Guan, W. y Fan, X. (2010). Combination of sodium chlorite and calcium propionate reduces enzymatic browning and microbial population of fresh-cut "Granny Smith" apples. *J. Food Sci.* 75(2), 72-77.
- Heck, C.I. y Mejía, E.G. (2007). Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J. Food Sci.* 72, 138-151.
- Hernández, Y.; Lobo, M.G. y González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Food Chem.* 96, 654-664.
- ISO 750, 1998. *Fruit and vegetable products - Determinations of titratable acidity. (Reference method)*. International Standard Organization, Ginebra, Suiza.
- ISO 1842, 1991. *Fruit and vegetable products- Determination of pH*. International Standard Organization, Ginebra, Suiza.
- Jang, J. y Moon, K. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chem.* 124, 444-449.

- Jeon, M. y Zhao, Y. (2005). Honey in combination with vacuum impregnation to prevent enzymatic browning of fresh-cut apples. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 56, 165–176.
- Jiang, Y.; Pen, L. y Li, J. (2004). Use of citric acid for shelf life and quality maintenance of fresh-cut Chinese water chestnut. *J. Food Eng.* 63, 325-328.
- Kader, A.A. (2002). Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products. En: *Fresh-cut fruits and vegetables. Science, Technology and Market.* (Ed. Lamikanra, O). CRC Press: Boca Raton. p. 11-20.
- Kähkönen, M.P.; Hopia, A.I.; Vuorela, H.J.; Rauha, J.; Pihlaja, K.; Kujala, T.S. y Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3954-3962.
- Khanizadeh, S.; Tsao, R.; Rekika, D.; Yang, R.; Charles, M.T. y Rupasinghe, H.P.V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *J. Food Compos. Anal.* 21, 396-401.
- Kim, D.N.; Smith, N.L. y Lee, C.Y. (1993). Apple cultivar variations in response to heat treatment and minimal processing. *J. Food Sci.* 58(5), 1111-1124.
- Kim, M.J.; Kim, C.Y. y Park, I. (2005). Prevention of enzymatic browning of pear by onion extract. *Food Chem.* 89, 181-184.
- King Jr, A.D. y Bolin, H.R. (1989). Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.-Chicago.* 132, 135-139.
- Koukounaras, A.; Diamantidis, G. y Sfakiotakis, E. (2008). The effect of heat treatment on quality retention of fresh-cut peach. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 30-36.
- Lamikanra, O.; Bett-Garber, K.L.; Ingram, D.A. y Watson, M.A. (2005). Use of mild heat pre-treatment for quality retention of fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 70 (1), 53-57.
- Laurila, E. y Ahvenainen, R. (2002). Minimal processing in practice. *Fresh fruits and vegetables.* En: *Minimal processing technologies in the food industry.* (Eds. Ohlsson, T. y Bengtsson, N.). CRC Press: Boca Raton. p. 219-244.
- Lawless, H.T. y Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food. Principles & Practices.* 2^{da} Edición. Springer: New York. p. 2-7.

- Lee, M.Y.; Lee, M.K. y Park, I. (2007). Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*). *Food Chem.* 105, 528-532.
- Lim, Y.Y.; Lim, T.T. y Tee, J.J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem.* 103, 1003-1008.
- Lozano, J.E. (2000). Fruit products, deterioration by browning. En: *Fruit manufacturing. Scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance*. Springer: New York. p. 163-181.
- Manzocco, L.; Da Pieve, S.; Bertolini, A.; Bartolomeoli, I.; Maifreni, M.; Vianello, A. y Nicoli, M.C. (2011). Surface decontamination of fresh-cut Apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biol. Technol.* 61, 165-171.
- Martín, L.; Bernardi, C. y Piagentini, A.M. (2010). Inhibición de la actividad de la enzima polifenoloxidasas de manzana var. Princesa con extractos de yerba mate. *Actas de la XVIII Jornadas de Jóvenes Investigadores, Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM), Santa Fe, Argentina, octubre 2010.*
- Martín-Diana, A.B.; Rico, D.; Barry-Ryan, C.; Mulcahy, J.; Frias, J. y Henehan, G.T.M. (2005). Effect of heat shock on browning-related enzymes in minimally processed Iceberg lettuce and crude extracts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(6), 1677-1685.
- Martín-Diana, A.B.; Rico, D. y Barry-Ryan, C. (2008). Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Innovative Food Sci. Emerg.* 9, 593-603.
- Martínez-Valverde, I; Periago, M.J; Ros, G; (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de Nutrición*, 50 (1).
- Meilgaard, M.; Civille, B. y Carr, T. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. 3^{era} Edición. CRC Press LLC: Boca Ratón.
- Montero-Calderón, M.; Rojas-Graü, M.A.; Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2009). Tendencias en el procesado mínimo de frutas y hortalizas frescas. *Revista Horticultura Internacional*. 69, 48-51.

- Montgomery, D.C. (1991). *Diseño y Análisis de Experimentos*. 3^{era} Edición. Grupo Editorial Iberoamérica: México DF.
- Murray, J.M.; Delahunty, C.M. y Baxter, I.A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Res. Int.* 34, 461-471.
- Nieves Hurtado, A. y Domínguez Sánchez, F.C. (2010). *Análisis de correlación y regresión*. En: *Probabilidad y estadística para ingeniería. Un enfoque moderno*. McGraw Hill Interamericana: México DF.
- Nováková, L.; Solich, P. y Solichová, D. (2008). HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends Anal. Chem.* 27(10), 942-958.
- Ogiri, Y.; Sun, F.; Hayami, S.; Fujimura, A.; Yamamoto, K.; Yaita, M. y Kojo, S. (2002). Very low vitamin C activity of orally administered L-dehydroascorbic acid. *J. Agric. Food Chem.* 50(1), 227-229.
- Oms-Oliu, J.; Rojas-Graü, M.A.; Alandes González, L.; Varela, P.; Soliva-Fortuny, R.; Hernando Hernando, M.I.; Pérez Munuera, I.; Fiszman, S. y Martín-Belloso, O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 139-148.
- Palomo, I.G.; Yuri J.A.S.; Moore-Carrasco R.; Quilodrán A.P. y Neira A.E. (2010). El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer: antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. *Revista Chilena de Nutrición.* 37(3), 377-385.
- 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. Fecha de acceso: 30/03/2015.
- Piagentini, A.M. (1999). *Conservación de vegetales listos para usar por la tecnología de factores combinados*. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Piagentini, A.M. y Güemes, D.R. (2002). Shelf-life of fresh-cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. *Braz. J. Chem. Eng.* 19(4), 383-389.

- Piagentini, A.M.; Pirovani, M.E. y Güemes, D.R. (2002). Sensory characteristics of fresh-cut spinach preserved by combined factors methodology. *J. Food Sci.* 67, 1544-1549.
- Piagentini, A.M.; Pirovani, M.E. y Güemes, D.R. (2008). Evaluación del color para determinar la susceptibilidad al pardeamiento enzimático de diferentes variedades de manzana. *ArgenColor 2008*, Noveno Congreso Argentino del Color. Santa Fe, Argentina, octubre 2008.
- Piagentini, A.M.; Pirovani, M.; Güemes, D. y Seipel, M. (2009). Compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y aptitud para el mínimo procesamiento de cinco variedades de manzanas. *Actas del XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL)*. Concordia, Argentina, octubre 2009.
- Piagentini, A.; Martín, L.; Bernardí, C.; Güemes, D. y Pirovani, M. (2012). Color changes in fresh-cut fruits as affected by cultivar, chemical treatment and storage time and temperature. En: *Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects*. (Eds.: Caivano, J.L. y Buera, M.P) CRC Press: Boca Raton. p. 263-270.
- Pirovani, M.E.; Güemes, D.R. y Piagentini, A.M. (2006). *Vegetales Frescos Cortados: Procesamiento y Calidad*. Colección Ciencia y Técnica. Ediciones UNL: Santa Fe.
- Prior, R.L.; Wu, X. y Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290-4302.
- Proteggente, A.R.; Pannala, A.S.; Paganga, G.; Van Buren, L.; Wagner, E. y Wiseman, S. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radical Res.* 36, 217-233.
- Qi, H.; Hu, W.; Jiang, A.; Tian, M. y Li, Y. (2011). Extending shelf life of Fresh-cut 'Fuji' apples with chitosan-coatings. *Innovative Food Sci. Emerg.* 12, 62-66.
- Quiles, A.; Hernando, I.; Pérez-Munuera, I. y Lluch, M.A. (2007). Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methylesterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. *J. Sci. Food Agric.* 87, 511-519.

- Rava, C.; Lanfranco, B. y Ferraro, B. (2011). Beneficios privados y beneficios sociales en la cadena de la manzana para exportación en el Uruguay. Serie Técnica N°192. Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA: Montevideo.
- Raybudi-Massilia, R.M.; Mosqueda-Melgar, J.; Sobrino-López, A.; Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2007). Shelf-life extension of fresh-cut "Fuji" apples at different ripeness stages using natural substances. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 265-275.
- Reglamento de la Unión Europea. Reglamento (CE) N°1441/2007 de la Comisión de 5 de diciembre de 2007.
- Reglamento Sanitario de los Alimentos (Chile). Decreto N°977/96. Artículo 173.
- Rico, D.; Martín-Diana, A.B.; Barat, J.M. y Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh cut fruit and vegetable: a review. *Trends Food Sci. Tech.* 18, 373-386.
- Rocha, A.M.C.N. y Morais, A.M.M.M. (2003). Shelf life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by colour changes. *Food Control.* 14, 13-20.
- Rodríguez, M.J. y Morar, R. (2002). Análisis de regresión múltiple. En: Estadística informática: casos y ejemplos con el SPSS. Universidad de Alicante, Servicio de Publicaciones, Alicante, España.
- Rodríguez Arzuaga, M.; Güemes, D.; Benavides, M.J.; Rivas, M.Z.; Pirovani, M.É. y Piagentini, A.M. (2013). Evaluación preliminar del efecto del tratamiento químico sobre atributos fisicoquímicos, sensoriales y bioactivos de manzanas frescas cortadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.* 14(2), 223-229.
- Rodríguez Vaquero, M.J.; Tomassini Serravalle, L.R.; Manca de Nadra, M.C. y Strasser de Saad, A.M. (2010). Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. *Food Control.* 21, 779-785.
- Rojas-Graü, M.A.; Grasa-Guillem, R. y Martín-Belloso, O. (2007). Quality changes in fresh-cut Fuji apple as affected by ripeness stage, antibrowning agents, and storage atmosphere. *J Food Sci.* 72(1), 36-43.
- Rojas-Graü, M.A.; Tapiam M.S. y Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT – Food Sci. Technol.* 41, 139-147.

- Rojas-Graü, M.A.; Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 20, 438-447.
- Roksana, H.; Wills, R.B.H.; Pristijono, P. y Golding, J.B. (2013). Effect of nitric oxide (NO) and associated control treatments on the metabolism of fresh-cut apple slices in relation to development of surface browning. *Postharvest Biol. Technol.* 78, 16:23.
- Saftner, R.A.; Abbott, J.A.; Bhagwat, A.A. y Vinyard, B.T. (2005). Quality measurement of intact and fresh-cut slices of Fuji, Granny Smith, Pink Lady, and GoddRush apples. *J. Food Sci.* 70(5), 317-324.
- Saltveit, M.E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 61-69.
- Sánchez-Mata, M.C.; Cámara-Hurtado, M.; Díez-Márquez, C. y Torija-Isasa, M.E. (2000). Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 210, 220-225.
- Santerre, C.R.; Cash, J.N. y Vannorman, D.J. (1988). Ascorbic acid/citric acid combinations in the processing of frozen apple slices. *J. Food Sci.* 53(6), 1713-1736.
- Sapers, G.M. (1993). Browning of foods: Control by sulfites, antioxidants, and other means. Scientific status summary. *Food Technol.-Chicago.* 47, 75-84.
- Seipel, M.; Pirovani, M.E.; Güemes, D.R.; Gariglio, N.F. y Piagentini, A.M. (2009). Características físicoquímicas de los frutos de tres variedades de manzanas cultivadas en la región centro-este de la Provincia de Santa Fe. *Revista FAVE-Sección Ciencias Agrarias.* 8(1), 27-36.
- Silveira, A.C. (2013). La industria de la IV gama en Uruguay. www.hortyfresco.cl. Fecha de acceso: 21/03/2015.
- Singleton, V.L. y Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- Sinha, N.K. (2006). Apples. En: *Handbook of Fruits and fruit processing.* (Ed. Hui, Y.H.). Blackwell Publishing: Iowa. p. 2655-278.

- Soleno Wilches, R. (2004). Hortalizas frescas precortadas en la ciudad de Buenos Aires: estructuras de gobernanza, estrategias y tácticas asociadas. Estudio de casos múltiple. Tesis de Maestría en Agronegocios y Alimentos. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Soliva-Fortuny, R.C.; Grigelmo-Miguel, N.; Odriozola-Serrano, I.; Gorinstein, S. y Martín-Belloso, O. (2001). Browning evaluation of ready-to-eat apples as affected by modified atmosphere packaging. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3685-3690.
- Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341-353.
- Soliva-Fortuny, R.C.; Elez-Martín, P. y Martín-Belloso, O. (2004). Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innovative Food Sci. Emerg.* 5, 215-224.
- Song, Y.; Yao, Y.; Zhai, H.; Du, Y.; Chen, F. y Wei, S. (2007). Polyphenolic compound and the degree of browning in processing apple varieties. *Agr. Sci. China.* 6(5), 607-612.
- Soysal, Ç. (2009). *Effects of green tea extract on "Golden Delicious" apple polyphenoloxidase and its browning.* *J. Food Biochem.* 33, 134-148.
- Statgraphics. (2006). *Diseño de Experimentos – Optimización de Múltiples Respuestas.* Manual STATGRAPHICS Centurion XV. StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU, p.16.
- Stone, H. y Siedel, J.L. (2004). *Sensory Evaluation Practices.* 3^{era} Edición. Academic: San Diego.
- Toivonen, P.M.A. (2007). *Processamento mínimo da maçã.* En: *Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças.* (Ed. Moretti, C.L.). Embrapa Hortaliças: Brasília. p. 243-261.
- Toivonen, P.M.A. y Brummell, D.A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 1-14.
- Toledo, R.T. (1999). *Fundamentals of Food Process Engineering.* 2^{da} Edición. Aspen Publishers, Inc.: New York.
- Tomás-Barberán, F.A. y Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 81, 853-876.

- Van de Velde, F.; Pirovani, M.E.; Cámara, M.S.; Güemes, D.R. y Bernardi, C. (2012). Optimization and validation of a UV-HPLC method for vitamin C determination in strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.), using experimental designs. *Food Anal. Methods*. 5, 1097-1104.
- Varela, P.; Salvador, A. y Fiszman, S. (2005). *Shelf-life estimation of 'Fuji' apples: Sensory characteristics and consumer acceptability*. *Postharvest Biol. and Technol.* 38, 18-24.
- Vicente, A.R.; Costa, M.L.; Martínez, G.A.; Chaves, A.R. y Civello, P.M. (2005). Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 38, 213-222.
- Watada, A.E. y Qi, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 201-205.
- Watkins, C.B.; Kupferman, E. y Rosenberger, D.A. (2004). Apple. En: *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florists and Nursery Stock (Agriculture Handbook Number 66)*. (Eds.: Gross, K.C.; Wang, C.Y. y Saltveit M.). USDA. Obtenido de: www.ba.ars.usda.gov/hb66/027apple.pdf. Fecha de acceso: 15/09/2011.
- Wu, Z.S.; Zhang, M. y Wang, S. (2012). Effects of high pressure argon treatments on the quality of fresh-cut apples at cold storage. *Food control*, 23, 120-127.
- Yildiz, H. y Baysal, T. (2006). Effects of alternative current heating treatment on *Aspergillus niger*, pectin methylesterase and pectin content on tomato. *J. Food Eng.* 75, 327-332.