

Sanitizantes emergentes: una alternativa en la postcosecha de la rúcula

Inestroza-Lizardo Carlos¹, Escalona Víctor Hugo²

¹ Departamento Académico de Producción Vegetal. Universidad Nacional de Agricultura. PO Box 09, Barrio el Espino, Catacamas, Honduras. Correo electrónico: cinestroza@unag.edu.hn; cinestrozalizardo@gmail.com

² Centro de Estudios Postcosecha, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Avenida Santa Rosa 11315, casilla 1004, La Pintana, Santiago, Chile. Correo electrónico: vescalona@uchile.cl

Recibido: 24/7/14 Aceptado: 15/12/14

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del dióxido de cloro a 3 y 5 mg L⁻¹ (ClO₂ 3 y ClO₂ 5), peróxido de hidrógeno a 30 y 50 mg L⁻¹ (H₂O₂ 30 y H₂O₂ 50) y radiación UV-C a 4 y 5 kJ m⁻² (UV-C 4 y UV-C 5) sobre la tasa respiratoria, coloración y calidad microbiológica de hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*), conservadas durante ocho días bajo atmósfera modificada pasiva a 5 °C, y comparar su efecto con el hipoclorito de sodio a 100 mg L⁻¹ (NaClO 100). Después de la cosecha, las hojas de rúcula fueron transportadas del campo y almacenadas durante 24 h en una cámara a 5 °C. Posteriormente se procesaron a 8 °C, se lavaron por inmersión durante 3 min en agua potable, para luego ser sometidas a los diferentes tratamientos. La calidad microbiológica resultó claramente influenciada por los sanitizantes evaluados. Los tratamientos ClO₂ 5 y H₂O₂ 50 redujeron los recuentos de enterobacterias en 1,3 log UFC g⁻¹ con respecto a la materia prima, mientras el NaClO junto al ClO₂ 5 y H₂O₂ 50 fueron los más efectivos en el control de bacterias aerobias mesófilas, reduciendo los recuentos entre 1,0 y 1,4 log UFC g⁻¹. El ClO₂ también fue efectivo en reducir la carga de microorganismos psicrófilos, a diferencia del NaClO. Todos los tratamientos conservaron el color de las hojas. Estos resultados sugieren que los sanitizantes ClO₂ y H₂O₂ pueden ser utilizados como alternativa al NaClO en el lavado postcosecha de hojas de rúcula considerando la calidad microbiológica y la coloración verde durante la conservación refrigerada.

Palabras clave: hipoclorito de sodio, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, radiación UV-C, hortalizas

Summary

Emerging Sanitizers: An Alternative in the Postharvest of Arugula

The aim of this work was to evaluate the effect of chlorine dioxide (3 and 5 mg L⁻¹; ClO₂ 3 and ClO₂ 5), peroxide hydrogen (30 and 50 mg L⁻¹; H₂O₂ 30 and H₂O₂ 50) and UV-C radiation (4 and 5 KJ m⁻²; UV 4 and UV 5) on the respiration rate, color and microbiological load of arugula leaves (*Eruca vesicaria*), stored eight days under a passive modified atmosphere at 5 °C; and to compare them with sodium hypochlorite 100 mg L⁻¹; (NaClO 100). After the harvest, the leaves of arugula were transported from the field and stored for 24 h in a chamber at 5 °C. The processing was carried out at 8 °C, where the leaves were washed by immersion for 3 min in potable water, before being subjected to different treatments. The microbiological quality was clearly influenced by the sanitizers evaluated. ClO₂ 5 and H₂O₂ 50 decreased the enterobacteria counts in 1.3 log CFU g⁻¹ compared to the raw material, while NaClO, ClO₂ 5 and H₂O₂ 50 were the most effective delaying the aerobic mesophilic bacteria, decreasing the counting between 1.0 and 1.4 log CFU g⁻¹. Unlike NaClO, ClO₂ also reduced the load of psychrophile microorganisms. All treatments preserved the color of the leaves. These results suggest that ClO₂ and H₂O₂ can be used

as an alternative to NaClO in the postharvest washing of arugula leaves considering microbiological quality and green color during refrigerated storage.

Keywords: sodium hypochlorite, chlorine dioxide, hydrogen peroxide, UV-C radiation, vegetables

Introducción

La rúcula (*Eruca vesicaria* Mill), pertenece a la familia de las *Brassicaceae*. Es de origen mediterráneo, pero se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo. Sus hojas y tallos jóvenes se consumen crudos en ensalada y tienen un sabor algo picante (Barillari *et al.*, 2005). Al igual que otras hortalizas de esta familia, la rúcula contiene una serie de fitonutrientes, como los carotenoides, vitaminas C, fibras, flavonoides y glucosinolatos, lo que ha despertado un gran interés por su posible papel en el mantenimiento de la salud humana, específicamente en la reducción del riesgo de cáncer y enfermedades crónicas (Barillari *et al.*, 2005; Martínez-Sánchez *et al.*, 2008; Koukounaras *et al.*, 2009). Además, en los últimos años, las hojas de rúcula han llamado la atención de la industria y la investigación como un producto novedoso en respuesta a la creciente demanda de los consumidores por vegetales listos para consumir (Koukounaras *et al.*, 2009). Esta hortaliza generalmente presenta una vida útil de 8 a 10 días en condiciones óptimas de almacenamiento (0 °C y cerca de 100 % HR). Sin embargo, estas condiciones son difíciles de mantener comercialmente, principalmente durante el transporte, por lo que generalmente es transportada y almacenada a 10 °C sin mantener los niveles adecuados de humedad relativa (Nielsen *et al.*, 2008; Koukounaras *et al.*, 2009).

Las hortalizas recién cosechadas presentan una carga microbiana inicial relativamente alta que va de entre 3 a 6 log UFC g⁻¹ (Char *et al.*, 2012). Un lavado óptimo de hortalizas consta de tres etapas: un primer lavado con agua potable, un segundo lavado con un agente sanitizante, y un tercer lavado con agua potable para eliminar los residuos de la aplicación del agente sanitizante (Devlieghere *et al.*, 2009). El agua es una herramienta útil para reducir la contaminación en las hortalizas. El principal factor a considerar en la aplicación del agente sanitizante durante el proceso de descontaminación en los vegetales es la calidad del agua de lavado utilizada, determinada por el pH, la temperatura, turbidez y carga orgánica, entre otros (Allende *et al.*, 2009; Devlieghere *et al.*, 2009).

Los agentes sanitizantes normalmente se añaden al agua de lavado con el objetivo de reducir la población mi-

crobiana de las hortalizas. El hipoclorito de sodio (NaClO), ha sido aplicado durante décadas y aún es el sanitizante mayormente empleado en la industria de vegetales enteros y mínimamente procesados (Tomás-Callejas *et al.*, 2012; Goodburn y Wallace 2013). Sin embargo, existe una preocupación creciente debido a que su máxima eficacia está limitada a cierto rango de pH (6,5 a 7,0) y a la ausencia de materia orgánica (Devlieghere *et al.*, 2009). Además puede ocasionar la formación de productos tóxicos como trihalometanos (THM) y cloraminas (Richardson *et al.*, 2000; Ölmez y Kretzschmar, 2009), así como provocar corrosión en los equipos de procesamiento (Artés *et al.*, 2011). Debido a estas limitantes, surge un gran interés en seleccionar sanitizantes más seguros y efectivos para la industria alimentaria para el lavado de estas. El ClO₂ y H₂O₂ forman parte de los principales agentes alternativos al NaClO evaluados en de los últimos años (Hinojosa *et al.*, 2012; Tomás-Callejas *et al.*, 2012; Goodburn y Wallace, 2013).

El interés por ClO₂ como sanitizante en las hortalizas se basa principalmente, en su eficacia contra los microorganismos y el amplio rango de pH en el cual mantiene su actividad. También es menos propenso al deterioro en la presencia de materia orgánica (Beuchat y Brackett, 1990). El dióxido de cloro es un fuerte agente oxidante y tiene una alta efectividad contra una amplia variedad de microorganismos (Gómez-López *et al.*, 2009), a los que destruye debido a la interrupción del transporte de nutrientes a través de la membrana celular. Resumidamente, este sanitizante se ha utilizado como alternativa al hipoclorito de sodio a una concentración de 3,0 y 1,3 mg L⁻¹ con resultados alentadores en ensaladas de lechuga Iceberg y zanahorias mínimamente procesadas. El dióxido de cloro en una dosis de 3 mg L⁻¹ fue igualmente efectivo al hipoclorito de sodio 100 mg L⁻¹ sin causar ningún efecto perjudicial sobre la calidad sensorial y el contenido de compuestos bioactivos de ensaladas de lechuga Iceberg y sin la potencial formación de THM (Ölmez y Kretzschmar, 2009). Gómez-López *et al.* (2008), logró una reducción de 2 unidades log en el recuento de mesófilos en zanahorias mínimamente procesadas, como resultado de la aplicación de ClO₂ a una concentración de 1,3 mg L⁻¹ durante 30 s. De forma similar, en hojas enteras de espinaca, el ClO₂ aplicado a una concentración

de 100 mg L⁻¹ durante 5 min a temperatura ambiente, redujo la población de *E. coli* O157: H7 en 2,6 log UFC g⁻¹ (Lee y Baek, 2008).

El H₂O₂ es un oxidante con efecto bactericida de gran alcance (incluyendo destrucción de esporas) (Khadre y Yousef, 2001) que no produce residuos, ya que se descompone en agua y oxígeno, por la acción de la enzima catalasa que se encuentra presente en forma natural en los productos vegetales. Sin embargo, presenta la limitante de requerir largos tiempos de contacto con el producto para obtener un efecto sobre la reducción de la carga microbiana, y posteriormente debe ser removido mediante lavados, pues podría ocasionar efectos negativos en la apariencia de algunos vegetales como el pardeamiento en lechugas o el blanqueamiento en las fresas (Ölmez y Kretzschmar, 2009). Su utilización al 2,5 y 5,0 % durante 5 min en melón entero almacenado a 5 °C redujo la carga de *Salmonella spp.* en 3 unidades log (Ukuku, 2004).

Otra alternativa para la sanitización de hortalizas que ha surgido en los últimos años son los tratamientos con radiación ultravioleta (UV-C). Estos consisten en un método físico y práctico que no deja residuos. Su efecto microbicida se da debido a que provoca un daño en el ADN microbiano, llegando a causar la muerte celular, sin alterar, por otro lado, la estructura de las células vegetales (Artés *et al.*, 2009; Escalona *et al.*, 2010; Hinojosa *et al.*, 2012). El tratamiento con radiación ultravioleta ofrece varias ventajas a los procesadores de alimentos, ya que no tiene restricciones legales, es letal contra una gran diversidad de microorganismos y presenta un bajo costo (Escalona *et al.*, 2010). El uso de radiación UV-C ha sido propuesto para la sanitización de superficies y hortalizas, y algunos estudios han señalado que tratamientos con UV-C inhiben el crecimiento microbiano, y retrasan el deterioro y la senescencia de los productos tratados (Artés *et al.*, 2009). La eficacia de la radiación UV-C parece ser independiente de la temperatura en el rango de 5 a 37 °C, pero dependiente de la incidencia lograda en los productos (Artés-Hernández *et al.*, 2008; Escalona *et al.*, 2010).

Actualmente la información existente en relación a sanitizantes alternativos y su efecto en la postcosecha de rúcula es limitada. Consecuentemente, en este trabajo se evaluó el efecto de siete tratamientos sanitizantes (NaClO 100 mg L⁻¹, ClO₂ a 3 y 5 mg L⁻¹, H₂O₂ 30 y 50 mg L⁻¹ y radiación UV-C 4 y 5 kJ m⁻²) en el control de la carga microbiana en hojas de rúcula almacenadas en atmósfera modificada pasiva. Paralelamente se estudió la influencia de estos sanitizantes sobre la tasa respiratoria y la evolución del color de las hojas de rúcula.

Materiales y métodos

Se utilizaron hojas de rúcula (*Eruca vesicaria* Mill), provenientes del huerto comercial «Más vida S.A.» ubicado en la Comuna de Calera de Tango, Región Metropolitana, Chile. Estas hojas se cultivaron en invierno y bajo invernadero. La forma de la cosecha fue manual en estado de madurez comercial (hojas de 10 cm de longitud), 30 días posteriores a su siembra. Una vez cosechada, la rúcula, se trasladó al Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) en bolsas de 14 kg, donde se almacenaron durante 24 h a 5 °C, con el objetivo de enfriar la materia prima previo a su procesamiento. Posteriormente, se procedió a una selección del material vegetal en función de su calidad visual, desechando las hojas que presentaban daños por insectos, enfermedades, coloraciones inadecuadas (amarillamiento, ennegrecimiento u otra), reducida turgencia (pérdida de agua), daño físico, entre otros. Además, se caracterizaron visualmente tres muestras representativas de aproximadamente 100 g cada una, se realizó un análisis inicial de la carga microbiológica y se determinó el color de las mismas.

A continuación, las hojas de rúcula se llevaron a la sala de manipulación y acondicionamiento, limpia y desinfectada, donde se trabajó a 8 °C. Antes de procesar las hojas de rúcula, se les realizó un lavado por inmersión con agua potable a 5 °C durante 3 min, con el fin de retirar cualquier material extraño. Una vez acondicionadas, las hojas de rúcula se sometieron a los tratamientos con las soluciones sanitizantes que se detallan a continuación: NaClO 100 mg L⁻¹ (tratamiento control), acidificado con ácido cítrico 0,2 N hasta llegar a un pH 6,5. Se prepararon dos concentraciones de ClO₂ (3 y 5 mg L⁻¹), cuyos pH fueron de 8,3 y 9,1 respectivamente; dos concentraciones de H₂O₂ (30 y 50 mg L⁻¹), cuyos pH fueron de 6,8 y 6,6 respectivamente, y dos tratamientos con radiación UV-C en dosis de 4 y 5 kJ m⁻². Tras la aplicación de las soluciones sanitizantes, todos los tratamientos (incluso las hojas que serían tratadas con radiación UV-C), fueron enjuagados durante un minuto en agua potable a 5 °C. Posteriormente, las hojas de rúcula fueron escurridas sobre una malla de acero inoxidable, durante 3 min, se centrifugaron con una centrifuga manual y se envasaron en atmósfera modificada pasiva (EAM), usando bolsas de plástico (0,18 × 0,23 m) con una permeabilidad al O₂ de 7000 mL. m⁻². día⁻¹ y al CO₂ 21000 mL. m⁻² día⁻¹ (bolsa PD-960 Sealed Air, CRYOVAC, Chile). Las bolsas se termosellaron (Plastic Film Sealer FR400A). Tras el envasado, el producto se conservó durante ocho días en

una cámara a 5 °C y 90-95 % HR, realizándose los análisis luego de 1, 5 y 8 días de almacenamiento posteriores al envasado. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento.

Tasa respiratoria

Se determinó con un método estático. Se colocaron 50 g de muestra en recipientes de vidrio de 1 L y se cerraron herméticamente. Los frascos estuvieron provistos de un septum de silicona en su tapa, a través del cual se tomaron muestras de gases de 10 mL, con una jeringa de plástico después de una hora de cierre, tiempo en que estos alcanzaron aproximadamente un 0,5 % de CO₂. La composición del espacio de cabeza fue monitoreada utilizando un cromatógrafo de gases CG (Hewlett Packard, 5890 serie II, California, EE.UU.) provisto de un detector de conductividad térmica, con una columna PoraPack Q (Waters, Milford MA, EE.UU.), con una temperatura de horno e inyector de 50 °C y de detector de 200 °C. Como gas transportador se empleó gas helio (Indura, Chile) a una presión de 50 psi y como patrón se utilizó un estándar comercial (10 % de CO₂) (Indura, Chile). La tasa respiratoria se expresó como la producción de CO₂ (mg kg⁻¹h⁻¹) y se midió a 5 °C (Martínez-Sánchez, 2008). Para convertir los mL de CO₂ a mg se multiplicaron los mL por un factor de 1,94, que varía según la temperatura utilizada (Kader, 2002).

Composición gaseosa

La evolución de la concentración de los gases de CO₂ y O₂ en el interior de las bolsas de plástico con las hojas de rúcula se determinó utilizando un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca) y se expresó como porcentaje de CO₂ y O₂. Para tomar las muestras gaseosas, se colocó una cinta adhesiva sobre la bolsa sellada con hojas (para evitar el rompimiento del plástico al momento del muestreo) y se pinchó directamente sobre ella. Posteriormente fueron realizados análisis de color y crecimiento microbiológico en las hojas de rúcula.

Color

El color de las hojas se midió en la zona adaxial de la hoja, utilizando un colorímetro compacto triestímulo (Minolta, CR-300, Japón) con iluminante D65, un ángulo observador de 0° y calibrado con un estándar blanco, usando el sistema CIE Lab obteniendo los parámetros L que indica luminosidad del color (0 = negro 100 = blanco), croma (C*) y ángulo de tono (h_{ab}). Cada réplica estuvo compuesta de ocho hojas por bolsa, totalizando tres réplicas por tratamiento.

Crecimiento microbiológico

En los días de análisis, se tomaron muestras de 10 g de hojas por repetición, añadiéndose 90 mL de agua peptonada tamponada estéril a una bolsa estéril (Modelo 400 Bags 6141, Londres, Reino Unido). Estas se homogenizaron durante treinta segundos en un masticador (IUL Instruments Barcelona, España). Las diluciones posteriores se hicieron en agua peptonada en función de la dilución necesaria para su siembra en placa. Se sembraron los grupos microbiológicos correspondientes a psicrófilos, mesófilos y enterobacterias. Los medios de cultivo y condiciones de incubación para los diferentes microorganismos utilizados fueron: para psicrófilos y mesófilos, agar de recuento en placa (PCA), incubados a 37 °C durante 48 h y 5 °C durante siete días respectivamente, y para enterobacterias, eosina azul de metileno (EMB), incubándose a 37 °C durante 48 h. Los recuentos totales se expresaron en unidades logarítmicas formadoras de colonias por gramo de muestra (log UFC g⁻¹).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con siete tratamientos y tres repeticiones cada uno, donde cada dosis de sanitizante correspondió a un tratamiento. La unidad experimental correspondió a una bolsa con 100 g de rúcula. Los residuos de los datos obtenidos se sometieron a una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un 5 % de significancia y se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha \leq 5 \%$) para la comparación de medias. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab Release (Universidad Estatal de Pensilvania).

Resultados y discusión

Tasa respiratoria

Inmediatamente después del procesamiento, las hojas de rúcula presentaron una tasa respiratoria alta entre 59 y 81 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹, registraron un leve descenso durante el primer día de conservación, y un posterior aumento durante los días 5 y 8 de almacenamiento a 5 °C. A los ocho días de almacenamiento los tratamientos H₂O₂ 30 y 50 fueron los que presentaron las tasas respiratorias más elevadas (77,8 y 91,0 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹), respectivamente. Estos valores fueron de 30 a 50 % mayores que los obtenidos mediante el tratamiento con ClO₂ 5, el cual registró la menor tasa respiratoria (60,0 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹). El resto

de tratamientos evaluados presentaron valores de tasa respiratoria entre 65,9 y 68,6 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ después de ocho días de almacenamiento a 5 °C (Cuadro 1). Resultados similares han sido descritos en berros higienizados con sanitizantes alternativos y almacenados durante 13 días a 5 °C, los que alcanzaron el equilibrio de su tasa respiratoria con un valor medio de 60,0 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Villenas *et al.*, 2010). De forma similar, Koukounaras *et al.* (2007), observaron tasas de 78,0 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ en hojas de rúcula conservadas a 5 °C durante 14 días.

En general, en este trabajo, los tratamientos afectaron la tasa respiratoria de las hojas de rúcula, siendo que los tratamientos a base de ClO₂ presentaron las tasas respiratorias menores durante la conservación, mientras los tratamientos a base de H₂O₂ registraron tasas mayores. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Martínez-Sánchez *et al.* (2008), quienes encontraron que los lavados con sanitizantes afectan ligeramente la tasa respiratoria de

las hojas de brásicas, aun cuando estas son conservadas a bajas temperaturas. Sin embargo, en la actualidad existe poca información publicada del efecto que tiene el lavado con sanitizantes alternativos sobre la fisiología de los vegetales, particularmente en la tasa respiratoria.

Composición gaseosa

Los cambios en la composición gaseosa dentro de los envases se muestran en la Figura 1. La concentración de O₂ disminuyó y la de CO₂ aumentó en todos los tratamientos durante el período de almacenamiento a 5 °C, principalmente debido a la respiración de las hojas de rúcula y la permeabilidad selectiva de la película empleada en los envases. La concentración de O₂ después de ocho días de conservación se redujo de 21 % hasta 0,5-3,8 % en el caso de los tratamientos a base de H₂O₂ y de radiación UV-C, los cuales presentaron los menores valores (Figura 1). Aquellas concentraciones más cercanas a 0 % son consideradas

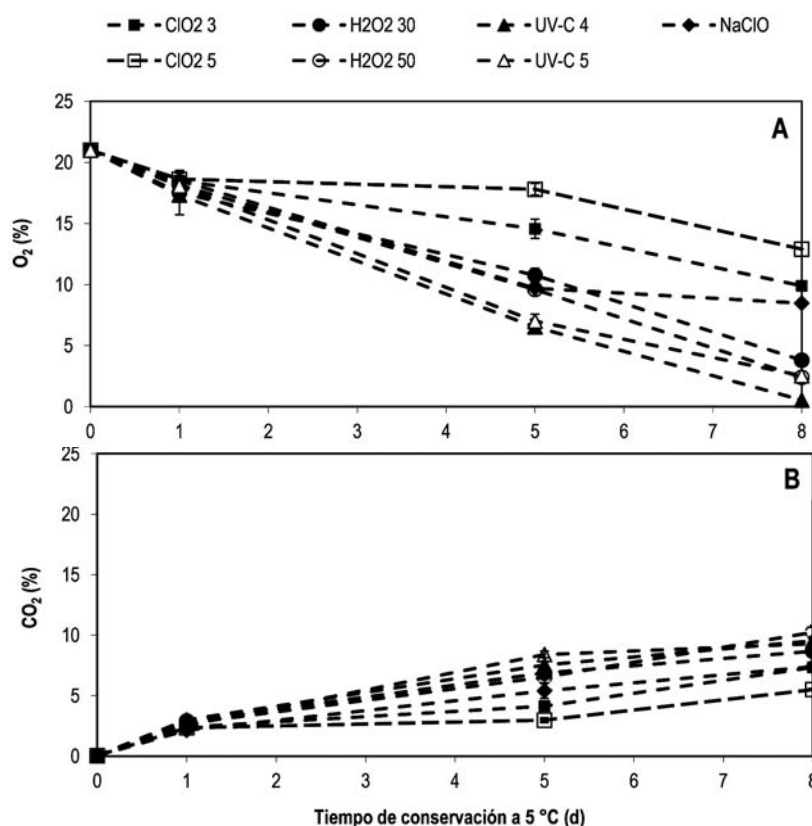


Figura 1. Evolución de la concentración de O₂ (A) y CO₂ (B) en los envases con hojas de rúcula tratadas con distintos sanitizantes y conservadas durante ocho días a 5 °C en atmósfera modificada pasiva. Las barras verticales indican el error estándar de la media. NaClO (hipoclorito de sodio), ClO₂ (dióxido de cloro), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) y UV-C (radiación ultravioleta C).

cercanas al límite de la respiración aeróbica de acuerdo con Saltveit (2003). Por otro lado, los tratamientos a base de ClO_2 y NaClO obtuvieron concentraciones de oxígeno superiores, que se situaron entre 8,5 y 12,9 % (Figura 1).

En forma contraria al oxígeno y debido a la existencia de una respiración activa (Cuadro 1), la concentración de dióxido de carbono se incrementó el primer día de almacenamiento hasta aproximadamente 3 % y se mantuvo en aumento, alcanzando el equilibrio a partir del día 4 con concentraciones entre 3 y 8 % dependiendo del tratamiento. Al final de la conservación refrigerada, los tratamientos a base de ClO_2 y NaClO presentaron las menores concentraciones de CO_2 (5,5 a 7,4 %), mientras los tratamientos con H_2O_2 y radiación UV-C registraron las más altas (8,7 a 10,2 %). Esta tendencia se observó durante los ocho días de conservación y los valores más altos de CO_2 obtenidos coincidieron con aquellos donde las hojas de rúcula consumieron más rápidamente el oxígeno, producto de una tasa respiratoria elevada (Cuadro 1). Las concentraciones de O_2 y CO_2 registradas en este experimento fueron similares a las descritas como adecuadas para la conservación de hortalizas de hoja como el perejil, la espinaca y el cilantro, situadas entre 5 y 8 % para el primero y entre 5 y 10 % para el segundo (Kader, 2002).

Color

El color es la característica más importante en las hojas de rúcula, siendo además el mayor problema en su postcosecha debido a la rápida senescencia, la que se ve reflejada en un amarillamiento, producto de la degradación de las clorofilas (Koukounaras *et al.*, 2007). Al inicio de la con-

servación, las hojas de rúcula mostraron valores de luminosidad (L) de entre 42,4 y 44,1, sin registrarse cambios significativos luego de ocho días de almacenamiento a 5 °C, así como tampoco diferencias entre tratamientos (Cuadro 2). Los valores de L obtenidos para las hojas de rúcula se asocian a un color verde oscuro, por lo que los tratamientos podrían tener un efecto positivo al mantenerla variable a lo largo del almacenamiento.

Para el croma (C^*), al inicio del experimento se obtuvieron valores de 26,0 a 28,7, mientras al final de la conservación se obtuvieron valores de 23,6 y 24,9 para los tratamientos ClO_2 30 y 50, respectivamente. Los tratamientos a base de radiación UV-C junto al NaClO presentaron valores de 27,8 a 28,1, mientras los tratamientos a base de H_2O_2 obtuvieron 28,8 a 29,0. Un valor mayor de C^* se relaciona con un color más intenso (Cuadro 2). El valor del croma luego de ocho días de almacenamiento fue mayor en las hojas tratadas con H_2O_2 (28,8-29,0) que en aquellas tratadas con ClO_2 , (23,6-24,9), sin diferenciarse ambas del resto de los tratamientos (Cuadro 2), lo cual demuestra una coloración más intensa en las hojas tratadas con peróxido de hidrógeno que en aquellas tratadas con dióxido de cloro. Sin embargo, ninguno de los tratamientos (con excepción del ClO_2 3) se diferenció del control (hipoclorito de sodio).

Por su parte, los valores del ángulo de tono (h_{ab}) se mantuvieron en un rango de 122,5 a 124,6 ° durante los primeros ocho días de almacenamiento, sin diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 2). La reducción en el h_{ab} correspondería al decrecimiento del verde y al incremento del amarillo, característica relacionada con la marchitez y senescencia del producto (Char *et al.*, 2012). La

Cuadro 1. Determinación de la tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) en hojas de rúcula tratadas con diferentes sanitizantes a los 0, 1, 5 y 8 días de almacenamiento a 5 °C en atmósfera modificada pasiva. NaClO (hipoclorito de sodio), ClO_2 (dióxido de cloro), H_2O_2 (peróxido de hidrógeno) y UV-C (radiación ultravioleta C)

Tiempo (d)	$(\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$													
	NaClO 100		ClO ₂ 3		ClO ₂ 5		H ₂ O ₂ 30		H ₂ O ₂ 50		UV-C 4		UV-C 5	
0	65,6		64,0		80,3		59,3		63,0		73,7		81,5	NS
1	45,6	ab	41,5	ab	26,9	a	50,4	b	53,1	b	42,5	ab	48,3	ab *
5	47,4	bc	31,6	ab	18,5	a	62,5	cd	57,4	cd	67,0	d	66,6	d *
8	68,6	ab	65,9	ab	60,0	a	77,8	bc	91,0	c	66,2	ab	67,3	ab *

Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba de Tukey $p < 0,05$.

NS: No significativo.

* Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 2. Evolución del color: luminosidad (L), croma (C*) y ángulo de tono (h_{ab}) en hojas de rúcula tratadas con diferentes sanitizantes a los 1, 5 y 8 días de almacenamiento a 5 °C en atmósfera modificada pasiva. NaClO (hipoclorito de sodio), ClO₂ (dióxido de cloro), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) y UV-C (radiación ultravioleta C)."

Parámetro	Tiempo (d)	NaClO 100	ClO ₂ 3	ClO ₂ 5	H ₂ O ₂ 30	H ₂ O ₂ 50	UV-C 4	UV-C 5	
L*	0	43,0	43,0	43,0	43,0	43,0	43,0	43,0	NS
	1	42,9	43,1	42,4	43,7	42,4	44,1	43,8	NS
	5	43,9	b 41,5	a 41,9	ab 43,0	ab 42,1	ab 43,9	b 44,0	b *
	8	44,0	41,1	41,6	42,9	43,2	43,6	44,0	NS
C*	0	27,1	27,1	27,1	27,1	27,1	27,1	27,1	NS
	1	27,6	27,7	27,2	28,3	26,9	28,5	28,7	NS
	5	28,8	b 25,9	a 25,2	a 28,2	b 26,7	ab 28,9	b 29,0	b *
	8	28,1	bc 23,6	a 24,9	ab 28,8	c 29,0	c 28,2	bc 27,8	bc *
h_{ab}	0	124,2	124,2	124,2	124,2	124,2	124,2	124,2	NS
	1	124,1	123,5	124,4	123,0	123,8	123,0	123,5	NS
	5	123,2	124,6	124,5	124,0	123,1	123,1	123,6	NS
	8	122,5	122,5	124,4	123,6	123,0	122,6	123,4	NS

Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba de Tukey $p < 0,05$.

NS: No significativo. * Significativo para $p < 0,05$.

poca variación del color mostrada en las hojas de rúcula se puede atribuir a la alta concentración de CO₂ y el bajo nivel de O₂ alcanzado en los envases. Estos efectos han sido previamente descritos por Gómez y Artés (2005), quienes encontraron que la conservación en una atmósfera modificada pasiva con bajo O₂ y alto CO₂ conservó el color verde de tallos de apio almacenados a 4 °C durante 15 días, en comparación con el testigo almacenado en aire.

Crecimiento microbiológico

En la Figura 2 se muestran los resultados obtenidos en los recuentos microbiológicos de hojas de rúcula según el sanitizante empleado. En todos los grupos evaluados el crecimiento microbiológico aumentó con el tiempo de conservación refrigerada, como ha sido observado previamente en otros trabajos (Escalona *et al.*, 2010; Aguayo *et al.*, 2012; Char *et al.*, 2012; Silveira *et al.*, 2014). Los recuentos iniciales de microorganismos aerobios mesófilos fueron de 5,8 log UFC g⁻¹, valor considerado elevado para hojas de rúcula (Char *et al.*, 2012). Según Taban y Halkman (2011), los factores que más influyen en la contaminación de los vegetales de hoja por bacterias son el tipo de riego utilizado, la fuente de agua, y el contacto humano o mecánico durante la cosecha. Los agentes sanitizantes utilizados para el lavado y la radiación UV-C, presentaron distintos niveles de reduc-

ción de la carga microbiana durante el almacenamiento (Figura 2A). Un día después de la aplicación de los sanitizantes, los tratamientos efectivos en la disminución de los recuentos respecto a la carga inicial fueron la aplicación de NaClO, en 1,4 log UFC g⁻¹, seguido por el ClO₂ 5 y el H₂O₂ 50 con reducciones de 1 y 1,3 log UFC g⁻¹ respectivamente. Los tratamientos ClO₂ 3, H₂O₂ 30, UV-C 4 y UV-C 5 no presentaron diferencias en los recuentos con respecto de la materia prima. Luego de ocho días de almacenamiento el tratamiento ClO₂ 5 presentó recuentos de mesófilos de 5,7 log UFC g⁻¹, diferenciándose de los obtenidos por radiación UV-C en sus dos dosis que alcanzaron 7,2 y 7,3 log UFC g⁻¹. Los demás tratamientos presentaron valores de 6,3 a 6,5 log UFC g⁻¹ (Figura 2A).

Por otra parte, el recuento inicial de enterobacterias fue de 5,0 log UFC g⁻¹ y los tratamientos redujeron estos conteos en 0,3 a 1,3 log UFC g⁻¹, correspondiendo las reducciones más altas a los tratamientos ClO₂ 5 y H₂O₂ 50. Resultados similares fueron registrados al finalizar la conservación refrigerada, donde los tratamientos a base de ClO₂ fueron los más efectivos en reducir la carga de este grupo de microorganismos, con recuentos de 5,6 a 5,8 log UFC g⁻¹, mientras los demás presentaron recuentos entre 6,8 y 7,6 log UFC g⁻¹ (Figura 2B).

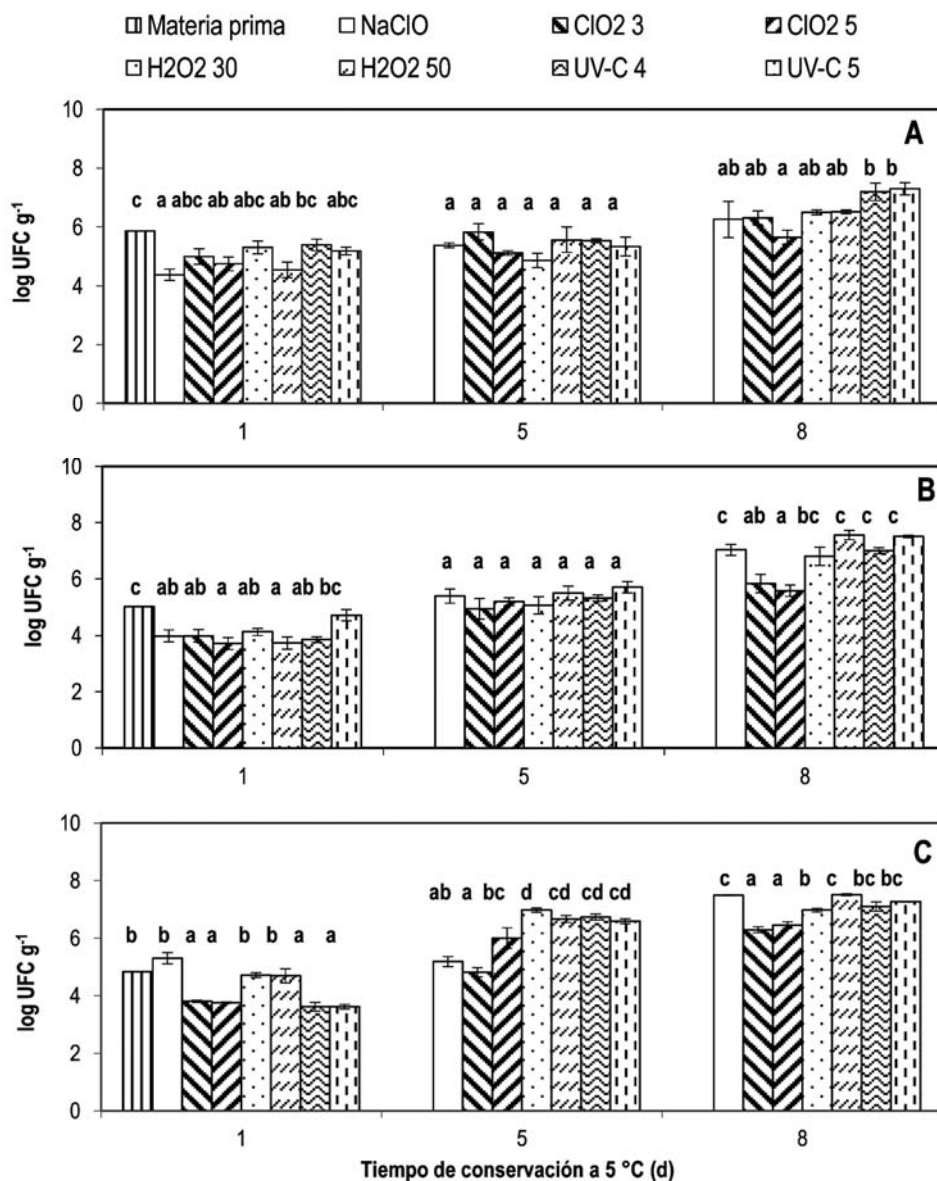


Figura 2. Recuentos de mesófilos (A), enterobacterias (B) y psicrófilos (C) (log UFC g⁻¹) según el sanitizante aplicado en hojas de rúcula a los 1, 5 y 8 días de almacenamiento a 5 °C en atmósfera modificada pasiva. Las barras verticales indican el error estándar de la media. NaClO (hipoclorito de sodio), ClO₂ (dióxido de cloro), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) y UV-C (radiación ultravioleta C).

De forma similar a lo registrado para enterobacterias, los tratamientos a base de ClO₂ fueron los más efectivos en reducir la carga de microorganismos psicrófilos, durante los ocho días de almacenamiento a 5 °C (Figura 2C). En relación al resto de los tratamientos evaluados, el NaClO mostró efectos positivos el día 5 pero no el día 8, mientras que los tratamientos a base de radiación UV-C redujeron la

carga de microorganismos únicamente el día 1 (Figura 2C). Resultados similares han sido previamente descritos por Escalona *et al.* (2010), quienes al tratar espinacas baby con diferentes dosis de radiación UV-C (2,4-24 kJm⁻²) observaron una reducción en la carga microbiana inicial. Sin embargo, el efecto inhibitorio fue dependiente del grupo de microorganismos evaluado.

De una forma general, los resultados obtenidos confirman el gran potencial del dióxido de cloro como agente sanitizante alternativo al hipoclorito de sodio en el lavado postcosecha de hojas de rúcula y su efectividad contra una amplia gama de microorganismos, a la vez que confirman la selectividad que presenta el hipoclorito de sodio en la reducción de algunas poblaciones de microorganismos más que en otros, como fue observado previamente por Beuchat y Brackett (1990). Estos autores demostraron una menor eficiencia del cloro en la reducción de las poblaciones de psicrófilos que de mesófilos en lechuga mínimamente procesada almacenada a 5 y 10 °C, coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo.

Conclusiones

Los tratamientos a base de dióxido de cloro surgen como una clara alternativa al hipoclorito de sodio para la sanitización de rúcula ya que disminuyeron la tasa respiratoria, mantuvieron la coloración verde durante toda la conservación refrigerada, y redujeron la carga de todos los grupos de microorganismos evaluados. De forma similar, el peróxido de hidrógeno puede ser considerado una alternativa, pues presentó recuentos similares al hipoclorito de sodio y también mantuvo la coloración de las hojas de rúcula, aunque provocó un aumento en la tasa respiratoria, favoreciendo la acumulación de CO₂ y la reducción del O₂ en la atmósfera. Con respecto a la radiación UV-C, se deben evaluar dosis más altas –entre 10 y 15 kJ m⁻²– pues las utilizadas no presentaron los resultados esperados en cuanto a reducciones microbiológicas. Sin embargo, estos tratamientos no presentaron efectos negativos sobre el color, que es la principal característica de calidad y de vida útil en la postcosecha de hortalizas de hoja. Adicionalmente, se recomienda la implementación de buenas prácticas agrícolas para producir hortalizas con alta calidad microbiológica, pues aun cuando se usen sanitizantes, las reducciones de estos son limitadas (1 a 2 log UFC g⁻¹ para frutas y hortalizas) y según la información científica consultada, estos no lograrían garantizar la seguridad microbiana de un producto que proviene de materias primas con altos recuentos iniciales. Por lo tanto, el uso de sanitizantes sería principalmente justificado para evitar la contaminación cruzada durante el procesamiento.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto de investigación Fondecyt – CONICYT N° 1090059, Chile. Los autores también agradecen a la empresa Más Vida S.A por suministrar las hojas de rúcula. A la Organización de los Estados Americanos (OEA), por financiar los estudios de maestría y a la Universidad Estadual Paulista (UNESP) por financiar los estudios de doctorado de Carlos Inestroza.

Bibliografía

- Aguayo E, Díaz-García R, Silveira A, Tarazona-Díaz M, Escalona V. 2012. Agentes químicos emergentes para el control microbiológico de brotes de *Tatsoi*. *Agrociencia (Uruguay)*, 16(1): 59 - 67.
- Allende A, Gil M, Selma M, López-Gálvez F. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology*, 134: 37 - 45.
- Artés F, Gómez P, Artés-Hernández F, Aguayo E. 2011. Innovaciones en el mantenimiento de la calidad y seguridad alimentaria de los productos hortícolas mínimamente procesados. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12: 8 - 18
- Artés F, Gómez P, Aguayo E, Escalona V, Artés-Hernández F. 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Journal Postharvest Biology and Technology*, 51: 287 - 296.
- Artés-Hernández F, Escalona V, Robles P, Martínez-Hernández B, Artés F. 2008. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *Journal Science Food Agriculture*, 89: 414 - 421.
- Barillari J, Canistro D, Paolini M, Ferroni F, Pedulli G, Lori R, Valgimigli L. 2005. Direct antioxidant activity of purified glucosinolate, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) Seeds and sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2475 - 2482.
- Beuchat L, Brackett R. 1990. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on lettuce as influenced by shredding, chlorine treatment modified atmosphere packaging and temperature. *Journal of Food Science*, 55: 755 - 758.
- Char C, Silveira A, Inestroza-Lizardo C, Hinojosa A, Machuca A, Escalona V. 2012. Effect of noble gas-enriched atmospheres on the overall quality of ready-to-eat arugula salads. *Postharvest Biology and Technology*, 73: 50 - 55.
- Devlieghere F, Vandekinderen I, De Meulenaer B, Ragaert P, Van Camp J. 2009. Decontamination strategies for fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Review*, 4(5): 1 - 8.
- Escalona V, Aguayo E, Martínez-Hernández G, Artés F. 2010. UV-C doses to reduce pathogen and spoilage bacterial growth in vitro and in baby spinach. *Postharvest Biology and Technology*, 56: 223 - 231.
- Gómez P, Artés F. 2005. Improved keeping quality of minimally fresh processed celery sticks by modified atmosphere packaging. *Food Science and Technology*, 38: 323 - 329.
- Gómez-López V, Rajkovicb A, Ragaertb P, Smigicb N, Devlieghere F. 2009. Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20: 17 - 26.
- Gómez-López V, Devlieghere F, Ragaert P, Debevere J. 2008. Reduction of microbial load and sensory evaluation of minimally processed vegetables treated with chlorine dioxide and electrolysed water. *Italian Journal of Food Science*, 20: 321 - 331.

- Goodburn C, Wallace C.** 2013. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. *Food Control*, 32: 418 - 427.
- Hinojosa A, Silveira A, Ospina M, Char C, Sáenz C, Escalona V.** 2012. Safety of ready-to-eat watercress using environmentally friendly sanitization methods. *Journal of Food Quality*, 36: 66 - 76.
- Kader A.** 2002. Modified atmospheres during transport and storage. En: Postharvest technology of horticultural crops. 3rd ed. California: University of California. pp. 135 - 144.
- Khadre M, Yousef A.** 2001. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *International Journal Food Microbiology*, 71: 131 - 138.
- Koukounaras A, Siomos A, Sfakiotakis E.** 2009. Impact of heat treatment on ethylene production and yellowing of modified atmosphere packaged rocket leaves. *Postharvest Biology and Technology*, 54: 172 - 176.
- Koukounaras A, Siomos A, Sfakiotakis E.** 2007. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 167 - 173.
- Lee S, Baek S.** 2008. Effect of chemical sanitizer combined with modified atmosphere packaging on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 in commercial spinach. *Food Microbiology*, 25: 582 - 587.
- Martínez-Sánchez A, Allende A, Cortes-Galera Y, Gil M.** 2008. Respiration rate response of four baby leaf Brassica species to cutting at harvest and fresh-cut washing. *Postharvest Biology and Technology*, 47: 382 - 388.
- Nielsen T, Bergstrom B, Borch E.** 2008. The origin of off-odours in packaged rucola (*Eruca sativa*). *Food Chemistry*, 110: 96 - 105.
- Ölmez H, Kretzschmar U.** 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *Food Science and Technology*, 42: 686 - 693.
- Richardson S, Thruston A, Caughran T, Chen P, Collette T, Schenck K, Lykins B, Rav-Acha C, Glezer V.** 2000. Identification of new drinking water disinfection byproducts from ozone, chlorine dioxide, chloramine, and chlorine. *Water, Air and Soil Pollution*, 123: 95 - 102.
- Saltveit M.** 2003. Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? *Postharvest Biology and Technology*, 27: 3 - 13.
- Silveira A, Aranedo C, Hinojosa A, Escalona V.** 2014. Effect of non-conventional modified atmosphere packaging on fresh cut watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) quality. *Postharvest Biology and Technology*, 92: 114 - 120.
- Taban B, Halkman A.** 2011. Do leafy green vegetables and their ready-to-eat (RTE) salads carry a risk of foodborne pathogens? *Anaerobe*, 17: 286 - 287.
- Tomás-Callejas A, López-Gálvez F, Sbdio A, Artés F, Artés-Hernández F, Suslowc T.** 2012. Chlorine dioxide and chlorine effectiveness to prevent *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* cross-contamination on fresh-cut Red Chard. *Food Control*, 23: 325 - 332.
- Ukuku D.** 2004. Effect of hydrogen peroxide treatment on microbial quality and appearance of whole and fresh-cut melons contaminated with *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 95: 137 - 146.
- Villenas P, Luchsinger L, Obando J, Hinojosa A, Escalona VH.** 2010. Efectos de diferentes sanitizantes en la calidad microbiológica de berros (*nasturtium Officinale*. Br.) envasados en atmósfera modificada. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(2): 214 - 220.