

DETERMINACIÓN DEL LARGO DE VIDA ÚTIL DE MEZCLA DE FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

Por
Diana Alexandra Villamil Andrade

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
En
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2014

Aprobado por:

Lynette E. Orellana Feliciano, PhD
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Fernando Pérez Muñoz, PhD
Miembro, Comité Graduado

Fecha

María de Lourdes Plaza, PhD
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Héctor L. Sánchez Rodríguez, PhD
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Aixa Rivera, MS
Coordinadora del Programa de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Fecha

ABSTRACT

This research was aimed to evaluate the shelf life of a mixture of minimally processed fruits (melon cantaloupe, mango, pineapple, orange, grape, mandarine and carambola) under modified atmosphere with the addition of NatureSeal® and potassium sorbate. Treatments consisted of immersing the fruit mixture in a solution with NatureSeal® and immersion in a solution of potassium sorbate. Once immersed in solution, fruits were packed in a modified atmosphere with nitrogen. This treatment was compared against a control (no immersion solution). After packaging, the product was stored under refrigeration at 5°C for 32 days. The shelf life of the product was evaluated for 28 days by microbiological testing for total aerobic, yeasts and molds, total coliforms and *Escherichia coli*. Also, parameters of pH, color, texture, composition of gases and weight loss were evaluated during the storage period. The microbiological analyzes showed the microorganism count reached at day 28, 4.40 log CFU/g for total aerobic and 4.37 log CFU/g for fungi and yeasts in the treatment solution NatureSeal® and potassium sorbate and control treatment 4.84 log CFU/g for total aerobic and 4.89 log CFU/g fungi and yeasts, resulting within the range of tolerance for fresh fruits. There was no presence of coliforms and *E. coli* in any of the treatments tested. pH showed no significant differences between treatments throughout the storage period. Color, showed no significant differences for chroma and hue parameters between the control and treatment in all fruits. Greater firmness was found in melon cantaloupe than pineapple; and firmness in pineapple decreased considerably during the storage time, being the control group the most affected. With the tests conducted it was concluded that the mixture of minimally processed fruits have a shelf life of 28 days under refrigeration at 5 °C with nitrogen atmosphere packaging, NatureSeal® and potassium sorbate .

RESUMEN

Esta investigación tuvo como propósito evaluar el largo de vida útil de una mezcla de frutas (melón cantaloupe, mango, piña, naranja, uva, mandarina y carambola) mínimamente procesadas bajo atmósfera modificada con la adición de NatureSeal® y sorbato de potasio. Los tratamientos consistieron en la inmersión de la mezcla de frutas en una solución con NatureSeal® y la inmersión en una solución de sorbato de potasio. Una vez sumergidas en solución, las frutas, fueron empacadas bajo una atmósfera modificada con nitrógeno. Este tratamiento fue comparado contra un control (sin solución de inmersión). Después del empaque, el producto fue almacenado bajo refrigeración a 5°C por 32 días. El largo de vida útil del producto fue evaluado por 28 días mediante análisis microbiológicos para la detección de aerobios totales, hongos y levaduras, coliformes totales y *Escherichia Coli*. También, parámetros de pH, color, textura, composición de gases y pérdida de peso fueron evaluados durante el periodo de almacenamiento. Los análisis microbiológicos demostraron que la carga de microorganismos alcanzó al día 28, 4.40 Log UFC/g para aerobios totales y 4.37 Log UFC/g para hongos y levaduras en el tratamiento en solución de NatureSeal® y sorbato de potasio. El tratamiento control presentó 4.84 Log UFC/g para aerobios totales y 4.89 Log UFC/g para hongos y levaduras, resultados encontrados dentro del rango de tolerancia para frutas frescas. No se detectó la presencia de coliformes ni *E.coli* en ninguno de los tratamientos evaluados. Las condiciones de pH no mostraron cambios significativos entre los tratamientos a lo largo del periodo de almacenamiento. El color, no mostró diferencias significativas para los parámetros croma y hue entre el grupo control y el tratamiento en todas las frutas. Se presentó mayor firmeza en melón cantaloupe que en piña;

disminuyendo la firmeza de forma considerable en la piña durante el tiempo de almacenamiento, siendo el grupo control el tratamiento más afectado. Con las pruebas realizadas se concluyó que la mezcla de frutas mínimamente procesadas tiene un largo de vida útil de 28 días bajo condiciones de refrigeración a 5°C en el empaque con atmósfera de nitrógeno, NatureSeal® y sorbato de potasio.

Derechos de Autor Reservados ©

Diana Alexandra Villamil Andrade

2014

DEDICATORIA

A Dios,

*“El tiempo de Dios es perfecto, para todo hay un tiempo señalado, aún un tiempo para todo
asunto bajo los cielos”*

Eclesiastés 3:1

A mis Padres,

*Efraín y Eider por su apoyo incondicional en toda esta etapa de maestría, porque nunca
claudicaron y creyeron en mí.*

A Salomé,

Por ser mi motivación, eres y serás mi mayor logro.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi fortaleza, tardo para la cólera y abundante en bondad amorosa. Dios es amor y nos lo demostró en su creación perfecta, el “hombre”.

Quiero agradecerles a mis padres por sus constantes llamadas, consejos sabios y valiosas demostraciones de cariño; porque siempre han estado conmigo. Mis logros se los debo a ambos.

A mi compañero de vida Gustavo por su apoyo, motivación y porque junto a Salomé no hubiera sido fácil sobrellevar los retos que hemos alcanzado.

A mi directora de tesis la Dra.Lynette Orellana por su guía y apoyo en este proyecto. Al Dr. Fernando Pérez por su amorosa colaboración y constante apoyo, disponibilidad y consejos en mi quehacer profesional y personal.

A la Dra. Negrón, por facilitar las instalaciones y velar porque todos sus estudiantes tengan disponibilidad de equipos y demás en sus proyectos de tesis. A las Dra Maria Plaza y Rosa Chavez por su guía en este proyecto. A Jaime y Don Ruperto por su colaboración como técnicos de laboratorio en el Departamento de CITA.

Al proyecto Z237 por los fondos para la realización de esta investigación.

A mis compañeros y amigos, Ariana Méndez, Eduardo Díaz, Luisenrique Molina, Pamela Cadavid, Iris Torres, Susie-ling Meletich y Natasha Andon por ser más que amigos, una familia aquí en Puerto Rico, por su apoyo y compañerismo en estos 3 años.

A Ángela Buitrago, Erika Zambrano, Gladys Tapie y José David por compartir 2 años de convivencia, consejos y ayuda. Eliana, Yoli y Natalia por brindarme su amistad, a Yetsabel Aucaille por su asesoramiento en el proceso analítico de los datos de esta investigación.

A la Dra. Ivellise Padilla por permitirme trabajar en el Departamento de Química y brindarme su amistad.

Y a todas aquellas personas que directa o indirectamente pasaron como compañeros, guías, tutores en este proceso para lograr este objetivo... Gracias.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	iii
AGRADECIMIENTOS	vii
TABLA DE CONTENIDO	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo general	4
2.2 Objetivos específicos	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1. FRUTAS	5
3.1.1 Mango	5
3.1.1.1 Piña	7
3.1.1.2 Cítricas	9
3.1.1.2.1 Naranja	9
3.1.1.2.2 Mandarina	11
3.1.3 Melón cantaloupe	12
3.1.4 Uva	13
3.1.5 Carambola	15
3.2 Producción de frutas mínimamente procesadas a nivel mundial y en Puerto Rico	17
3.3 Frutas mínimamente procesadas	19
3.4 Factores y procesos que afectan la calidad de las frutas mínimamente procesadas	21
3.4.1 Materia prima	21
3.4.2 Lavado	21
3.4.3 Pelado y corte	22

3.4.4.	Soluciones de inmersión o recubrimientos comestibles _____	23
3.4.5.	Agentes antimicrobianos _____	23
3.4.6.	Sorbato de potasio _____	25
3.4.7.	Agentes antioxidantes _____	26
3.4.8.	Agentes que mantienen la textura en frutas mínimamente procesadas _____	28
3.4.9.	NatureSeal® _____	29
3.4.10.	Empaque _____	30
3.5	Patógenos humanos relacionados en productos frescos _____	33
3.5.1.	<i>Listeria monocytogenes</i> _____	34
3.5.2.	<i>Salmonella</i> _____	35
3.5.3.	<i>Escherichia coli</i> _____	36
3.6	Directrices microbiológicas para frutas y vegetales frescos _____	37
4.	MATERIALES Y MÉTODOS _____	39
4.1	Obtención de la materia prima _____	39
4.2	Preparación de las muestras _____	40
4.3	Mezcla de frutas _____	40
4.4	Adición de solución de NatureSeal® y sorbato de potasio _____	40
4.5	Empaque _____	43
4.6	Almacenamiento _____	45
4.7	Análisis fisicoquímico _____	48
4.7.1	pH _____	48
4.7.2	Color _____	48
4.7.3	Textura _____	49
4.7.4	Composición de gases en el espacio libre de la bandeja _____	50
4.7.5	Pérdida de peso _____	51
4.8	Análisis microbiológico _____	52
4.8.3	Recuento de aerobios totales _____	52
4.8.4	Recuento de hongos y levaduras _____	53
4.8.5	Recuento de coliformes y <i>E. Coli</i> _____	53
4.9	Diseño experimental _____	54

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
5.1 Análisis fisicoquímico	55
5.1.1 pH	55
5.1.2.1 Color	57
5.1.3 Textura	67
5.1.4 Composición de gases en el espacio libre de la bandeja	71
5.1.5 Pérdida de peso	73
5.2 Análisis microbiológico	75
5.2.2 Recuento de aerobios totales	75
5.2.3 Recuento de hongos y levaduras	77
5.2.4 Recuento de coliformes y <i>E. coli</i>	79
6. CONCLUSIONES	81
7. RECOMENDACIONES	83
8. BIBLIOGRAFÍA	85
9. APÉNDICE	99
9.1 Análisis estadístico	99
9.1.2 Análisis de varianza para hongos, mohos y levaduras	101
9.1.3 Análisis de varianza para pH	103
9.1.4 Análisis de varianza para color	105
9.1.5 Análisis de varianza para textura	119
9.1.6 Concentración de gases en el espacio libre de la bandeja	121
9.1.7 Porcentaje de Pérdida de peso	123
9.1.8 Prueba de análisis sensorial	124
9.2 Guías de interpretación microbiológica	126
9.2.1 Conteo de aerobios totales	126
9.2.2 Hongos, mohos y levaduras	131
9.2.3. Coliformes y <i>E.coli</i>	137

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción global de frutas y vegetales desde 1982 hasta 2004	17
Figura 2. Productores de frutas y hortalizas a nivel mundial	18
Figura 3. Productos agrícolas producidos en Puerto Rico.	19
Figura 4. Frutas utilizadas para la elaboración de la mezcla.....	39
Figura 5. Diferentes soluciones de NaturaSeal® y sorbato de potasio	41
Figura 6. Solución de inmersión de la mezcla de frutas	42
Figura 7. Empaques utilizados como preliminares	44
Figura 8. Sellado de bandejas	45
Figura 9. Almacenamiento de mezcla de frutas bajo atmósferas modificada a 5°C.....	46
Figura 10. Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de mezcla de frutas mínimamente procesadas bajo atmósfera modificada.....	47
Figura 11. Curva fuerza-deformación.....	50
Figura 12. Ensayo inicial de empaque con aire y nitrógeno	51
Figura 13. Lectura de los parámetros chroma y hue de melón en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	58
Figura 14. Lecturas de los parámetros chroma y hue de mandarina en almacenamiento, para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	60
Figura 15. Lecturas de los parámetros chroma y hue de carambola en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	61
Figura 16. Lecturas de los parámetros chroma y hue de mango en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	63

Figura 17. Lectura de los parámetros chroma y hue de uva en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	64
Figura 18. Lecturas de los parámetros chroma y hue de piña en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	66
Figura 19. Lectura de los parámetros chroma y hue de naranja en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	67
Figura 20. Cambios de O ₂ y CO ₂ en el espacio libre de la bandejas con mezcla de frutas mínimamente procesadas durante 32 días de almacenamiento a 5°C.....	72
Figura 21. Efecto de la adición de Natureseal y sorbato de potasio y control sobre la pérdida de peso en frutas mínimamente procesadas bajo atmosfera modificada almacenadas a 5°C.	74

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Productos alimenticios en los que se utilizan los sorbatos y concentraciones típicas de uso	26
Tabla 2. Concentración de gases recomendada.....	32
Tabla 3. Directrices microbiológicas para las frutas fresca	38
Tabla 4. Concentraciones preliminares de NatureSeal® y sorbato de potasio	41
Tabla 5. Empaques preliminares	43
Tabla 6. Porcentaje de CO ₂ y O ₂ iniciales.....	51
Tabla 7. pH para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.	57
Tabla 8. Firmeza en la mezcla de frutas mínimamente procesadas para melón cantaloupe y piña en los dos tratamientos almacenados a 5 °C.....	69
Tabla 9. Medias de recuento de aerobios totales.....	76
Tabla 10. Medias de recuento de hongos y levaduras.....	78

1. INTRODUCCIÓN

Una de las mayores preocupaciones de los consumidores hoy día es tener dietas saludables. Esto ha generado avances en la agronomía, el procesamiento, la preservación, distribución y comercialización de tecnologías que permiten a la industria de productos el abastecimiento de frutas y verduras frescas durante todo el año. Entre los avances se encuentran los alimentos mínimamente procesados que contribuyen a prevenir trastornos ocasionados por la falta de nutrientes, reduciendo así el peligro de padecer enfermedades cardiovasculares y cáncer. La OMS (Organización Mundial de la Salud) estableció como meta poblacional una ingesta de 400gr diarios de frutas y verduras según lo publicado en un artículo titulado dieta, nutrición y prevención de las enfermedades crónicas (OMS, 2003).

Las frutas mínimamente procesadas lo define la Asociación Internacional de producción de frutas frescas (IFPA) como cualquier fruta o vegetal que ha sido alterado físicamente de su forma original, pero sigue en estado fresco. Dada la naturaleza altamente perecedera de estos productos, en comparación con el producto intacto, se ocasionan pérdidas que pueden exceder miles de millones dólares al año (Garrett, 1997). Una de las problemáticas en los últimos años ha sido el aumento en brotes de microorganismos relacionados con el consumo de verduras frescas, hierbas y frutas. Se mencionan como posibles razones para este aumento el que este tipo de productos se manipulan a la hora de producirlos lo que podría introducir microorganismos patógenos a la superficie de los mismos, así como el almacenamiento, y la manipulación en la cocina del consumidor de forma no higiénica. Además, la mayoría de los microorganismos crecen mejor a

valores de pH alrededor de 6.6-7.5 y una actividad de agua (a_w) de 0.85 (James et al., 2005), siendo las frutas y vegetales un medio ideal para el crecimiento y desarrollo de microorganismos. Como resultado del deterioro fisiológico y microbiano que ocurre durante el almacenamiento y la comercialización de los productos frescos, especialmente productos listos para consumir, hay una necesidad de desarrollar tratamientos eficaces y no dañinos para el mantenimiento de la calidad (aspecto, sabor, textura, valor nutritivo) y la seguridad alimentaria de los productos cosechados frescos (Pandey et al., 2013).

El mercado de los productos frescos se ha convertido en uno de los puntos fuertes de venta más deseado por los consumidores de hoy. Como lo reporta la USDA para el año 2004 la producción mundial de frutas alcanzó 379.15 millones de toneladas, un aumento del 0.85% desde 2002 (USDA, 2004). Este crecimiento también es notorio en la agricultura de Puerto Rico en donde ha contribuido con 821 millones de dólares a la economía de la isla para el año fiscal 2009-2010, representando el 10% del ingreso bruto y 15,000 empleos directos (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2009).

Esta investigación tuvo como propósito evaluar el largo de vida útil de una mezcla de frutas mínimamente procesadas bajo atmósfera modificada con la adición de NatureSeal® y sorbato de potasio. Esto constituye una herramienta para aprovechar la agricultura del país.

La determinación de las propiedades microbiológicas del producto es de vital importancia para obtener información del alimento y fijar pautas en el establecimiento de las condiciones de

evaluación de la vida útil del producto como medida de cuan largo será el tiempo en el que se mantenga una calidad óptima del mismo durante su procesamiento, transporte y almacenamiento, garantizando un producto seguro para el consumidor y que conserve sus propiedades de sabor y frescura.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del NatureSeal® y sorbato de potasio bajo condiciones de empaque en atmósfera modificada con nitrógeno en los atributos de calidad y vida útil de la mezcla de frutas mínimamente procesadas.

2.2 Objetivos específicos

1. Evaluar cambios en pH, color, textura y apariencia de la mezcla de frutas durante el periodo de almacenamiento.
2. Evaluar calidad microbiológica de la mezcla de frutas durante almacenamiento (microorganismos aerobios totales, mohos, hongos y levaduras, coliformes y *E.coli*).
3. Evaluar el empaque en atmósfera de nitrógeno sobre la calidad y vida útil de la mezcla de frutas mínimamente procesada.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. FRUTAS

3.1.1 Mango

El mango (*Mangifera indica L.*) es una planta dicotiledónea que pertenece al orden Sapindales de la familia *Anacardiaceae* y es conocido por su fruto de sabor exótico. El mango es ampliamente cultivado en los trópicos y subtrópicos. La producción de esta fruta está presente en más de 87 países, de los cuales los mayores productores de mango son: India, China, Tailandia, Indonesia, Filipinas, Pakistán, México, Estados Unidos (Florida, Hawái), Venezuela y Brasil (Sivakumar et al., 2011). En los Estados Unidos el consumo de mango per cápita ha visto un aumento del 2000 a 2010 de 1.7 a 2.01 kg/año (USDA ERS, 2012).

La base de datos de la USDA especifica que 100 g de mango crudo ofrece 60 Kcal de energía, 0.82 g de proteína, 0.38 g de grasa, 14.8 g de carbohidratos, 1.6 g de fibra, 13.66 g de azúcares totales, 11 g de calcio, 0.16 mg de hierro, 10 mg de magnesio, 14 mg de fósforo y 36.4 mg vitamina C (USDA, 2010).

En condiciones tropicales el mango tarda en llegar a la madurez entre 6 – 7 días después de su cosecha a 20-25°C y se vuelve demasiado maduro en un plazo de 15 días después de ser cosechado (Jacobi et al., 2001). Existe mucha diversidad en tamaño, forma y apariencia y otras características fisiológicas de la fruta, por lo tanto, el peso promedio de fruta de mango maduro

puede oscilar entre 80 y 800 g. La planta puede crecer en cualquier tipo de suelo bien drenado a una profundidad de 2 a 2.5 m. En suelos ácidos su crecimiento es mejor y florece a una altitud de 1400m a 24-27°C en condiciones poco húmedas durante la floración. El mango tiene dos partes: el epicarpio, la parte que protege el fruto, y el mesocarpio, la porción carnosa comestible o la pulpa que recubre la semilla, de color amarillo debido a la presencia de carotenoides (Jacobi et al., 2001). Esta última parte contiene principalmente glucosa, fructosa y sacarosa y su contenido de azúcar puede variar desde 11.5 hasta 25% dependiendo del tipo de mango y la etapa de madurez (Sivakumar et al., 2011).

El mango es un fruto climatérico, que muestra un pico característico de la actividad respiratoria durante la maduración. Debido a su alta tasa de respiración durante la maduración tiene una vida de almacenamiento corta.

La fruta de mango contiene muchos ácidos tales como oxálico, cítrico, málico, succínico, pirúvico, adípico, galacturónico, glucurónico, siendo el ácido cítrico el de mayor proporción. Este fruto es una fuente rica de compuestos bioactivos como: ácido ascórbico, β -caroteno y fenoles totales (Sogi et al., 2012). El contenido de proteína se encuentra entre 0.5 – 1% en base a la fruta fresca y contiene 12 aminoácidos (alanina, arginina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina, triptófano y valina) (Ekpe Onot, 2007). Su contenido de lípidos en la cáscara y la pulpa depende de la variedad y oscila entre 0.75-1.70% y 0.80-1.36%, respectivamente (Sivakumar et al., 2011).

3.1.1. Piña

La piña (*Ananas comosus*) de la familia de las *Bromeliaceae*, cuenta con unos 45 géneros y 2000 especies. Esta fruta es originaria de América del Sur pero crece en varios países tropicales como Hawai, India, Malasia, Filipinas y Tailandia (Elss et al., 2005), así como en Puerto Rico. La piña es la tercera fruta tropical más importante en el mundo después del plátano y el mango. Hoy en día China, es el mayor productor mundial de piña con 1.4 billones de toneladas para el año 2008 (Hong et al., 2013). Puerto Rico registró para el año 2010 una producción de 24,893 toneladas (FAO, 2013).

La piña es una fruta múltiple, formada por la fusión de frutiolos que subtienden brácteas de hoja entre sí y un eje fibroso central o pedúnculo. El fruto es cilíndrico, ancho en la base y se estrecha ligeramente hacia el ápice. Se estima que el tiempo requerido desde la floración hasta la cosecha de la fruta es de aproximadamente 4.5 – 5.5 meses (Salunkhe y Kadam, 1995). La piña es un fruto no climatérico y produce alrededor de $22 \text{ ml kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de CO_2 a 23°C . La temperatura es el factor más importante en el cultivo de piña, influyendo en la tasa de crecimiento de la fruta y en conjunto con la radiación solar tiene una dramática influencia en la cantidad de sólidos solubles totales y acidez que determinan la calidad de la fruta. El cultivo de piña no tolera heladas. Temperaturas entre $7\text{-}10^\circ\text{C}$ por pocas horas pueden causar necrosis de la hoja y causar daño de la fruta. El rango ideal para el crecimiento varía entre $15\text{-}20^\circ\text{C}$ (Bartholomew et al., 2003). Los frutos alcanzan su madurez completa en dos semanas a temperaturas entre 8 y 12°C (FAO, 2003).

La piña recién cosechada contiene 80-85% de agua, 12-15% de azúcar, 0.6% de ácidos, 0.4% de proteínas, 0.5% cenizas, 0.1% de grasas, algo de fibra, y vitaminas (principalmente A y C) (FAO, 2013). Su contenido de vitamina C varía de 10 a 25 mg/100 g. Los principales carbohidratos presentes son sacarosa, glucosa y fructosa (Salunkhe & Kadam, 1995). El pH del jugo de piña disminuye desde 3.9 hasta 3.7 y aumenta a medida que el fruto madura. Los ácidos orgánicos predominantes en el fruto de piña son: el cítrico y málico (Bartholomew et al., 2003).

La variedad 'Gold' es la más aceptada mundialmente por varios atributos: forma cilíndrica, hombros cuadrados, color intenso naranja-amarillo de la cáscara, pulpa de color amarillo claro, dulzura, textura, alto contenido de ácido ascórbico pero de baja acidez total y un tamaño de 1.3 hasta 2.5 kg (Montero-Calderón et al., 2008). Bartholomew y colaboradores (2003) identificaron 157 compuestos volátiles incluyendo: ésteres, lactonas, aldehídos, cetonas, alcoholes y unos grupos de compuestos misceláneos. Los ésteres constituyen más del 80% del total, siendo el furaneol y el 2-metilbutanoato de etilo los principales compuestos contribuyentes del aroma de la fruta (Bartholomew et al., 2003).

La piña fresca cortada es apreciada por su sabor, aroma y jugosidad, sin embargo, su vida útil está limitada por cambios en el color, textura, malos sabores y crecimiento microbiano. Esto a su vez está afectado por el embalaje, las condiciones y la temperatura de almacenamiento, así como el cultivo y la etapa de madurez (Soliva-Fortuny et al., 2002).

3.1.2. Cítricas

Las cítricas son provenientes de la familia *Rutacea*. Entre los diferentes tipos de cítricos se encuentra: naranja dulce (*Citrus sinensis* L.), mandarinas (*C. reticulata* L.), pomelo (*C. paradisi Macf*), pomelo (*C. grandis Osbeck*), limones (*C. limon Burm*) y tangelo (*C. reticulata C. paradisi Swingle*) (Sharma et al., 2006).

La naranja dulce es originaria del sureste de Asia, sin embargo, es producida en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Sharma et al., 2006). La producción mundial de los cítricos en 1980 fue de 56.61 millones de toneladas métricas, mientras que en 1990 fue de 67.63 millones de toneladas métricas (Salunkhe & Kadam, 1995). Una cuarta parte de las naranjas en el mundo son producidas en los Estados Unidos y Brasil. Japón es el principal productor de mandarinas, mientras que en España, Estados Unidos, Brasil, Italia, China, Argentina, Italia, Reino Unido, México e India se producen limas y limones. La naranja aporta el 71% de producción mundial de cítricos (Ladanyia, 2010).

3.1.2.1 Naranja

La naranja es una especie altamente poliembriónica de origen chino (Ladanyia, 2010). Tiene forma ovalada, color naranja, piel apretada con un núcleo central sólido. Las variedades importantes son Mosambi, Malta Sangre Roja, Sathagudi de la India, Valencia, Piña, Washintong Navel y Shamouti de Israel (Salunkhe y Kadam, 1995).

Las naranjas son frutos no climatéricos, por lo tanto, su tasa de respiración y producción de etileno no exhibe notable aumento junto con los cambios relacionados con la madurez (Plaza et al., 2011). La respiración de los frutos se ve afectada por la temperatura, la humedad, el movimiento del aire, gases de la atmósfera y las prácticas de manipulación (Ladanyia, 2010). Las naranjas pueden crecer bien en una amplia gama de suelos, desde los profundos, sueltos, aireados, con un pH ideal entre 5.5 y 7.5.

Según Dugo y Giacomo (2003), las naranjas dulces, o cítricos pertenecientes a la especie *Citrus sinensis* (L.) Osb, se agrupan de la siguiente manera:

1. naranjas Navel: se pueden distinguir por la presencia de un ombligo en el extremo de la fruta. Estos incluyen cultivares como “Washington”, “Thompson”, “Navelina”, “Navelate” y "Newhall".
2. naranjas comunes: también llamadas naranjas blancas. Algunas variedades conocidas son: Cadenera de España, Jaffa de Israel, Biondo comune de Italia, Pera de Brasil, o Pineapple y Valencia de EE.UU.
3. naranjas de sangre: se caracteriza por la presencia de antocianina en la fruta, dándole un color rojo más o menos intenso a su jugo, la pulpa o corteza. Los cultivares de este grupo son Moro, Tarocco, Sanguinelli y Doble fina.
4. naranjas ácidas: debido a la alta acidez del jugo. Las variedades conocidas son Sucreña o Imperial y Succari.

Las naranjas no sufren ablandamiento después de la cosecha. Por lo tanto, puede ser almacenada por periodos de tiempo entre 6 a 8 semanas. Sin embargo, limita su almacenamiento ciertas patologías que provocan la aparición de diversos trastornos en la corteza causando decadencia fisiológica del fruto (Porat et al., 2004).

3.1.2.2 Mandarina

La mandarina (*Cirus reticulata*) perteneciente a la familia *Rutaceae* del género *Citrus* está representada por 2,000 especies, 150 géneros y siete subfamilias. La fruta es cultivada en países con clima templado, veranos e inviernos suaves, especialmente en: Japón, Brasil, Argentina, Estados Unidos y Australia (Lota et al., 2000).

El fruto de la mandarina puede tener un diámetro entre 5-8 cm, es globosa achatada y tiene un pequeña depresión en el ápice (Sharma et al., 2006). La fruta es relativamente lisa con una coloración de naranja claro. Entre sus componentes químicos naturales se encuentra ácido cítrico, ácido ascórbico, minerales y flavonoides (Jamali et al., 2006). El periodo de conservación de *C. reticulata* es de unos 5-6 días a temperaturas ambiente (25-30°C), por lo que debe ser distribuído inmediatamente después de su recolección.

3.1.3 Melón cantaloupe

El fruto de melón cantaloupe es originario de Asia occidental y África. Los inicios del cultivo se remontan a 2400 años A.C. en territorio egipcio donde ya era conocido y probablemente provenía de la India, Sudan o los desiertos Iranies. Trescientos años después estaba muy extendido en Italia (Bird, 2013). Estados Unidos es uno de los principales consumidores mundiales de melón con un consumo de 8.5 libras por persona/año (USDA ERS, 2012). Para el año 2012 la superficie cultivada de melón cantaloupe fue de 66,350 hectáreas, siendo los estados de Colorado, Indiana, Pennsylvania, Carolina del Sur y Texas los de mayor producción (USDA, 2013). De acuerdo a la FAO (2013), para el año 2011 el mayor productor de melón cantaloupe fue China seguido por Turquía, Estados Unidos. Puerto Rico, para el año 2011, tuvo una producción de 1851 toneladas. Brasil por su parte ocupa el sexto lugar entre los países exportadores de melón cantaloupe a nivel mundial. Su mercado externo se centra en Holanda, Reino Unido y Finlandia, siendo responsables del 66.7% de las exportaciones nacionales de este país (Bastos et al., 2005).

El melón cantaloupe (*Cucumis melo* L.) pertenece a la familia de las *Cucurbitáceas*, género *cucumis* L., especie *Cucumis melo* L. Es una fruta de estación cálida que requiere un clima cálido y seco a temperatura óptima entre 27-30°C para su cultivo. Una alta humedad atmosférica afecta la formación de azúcar, la textura y el sabor en las frutas. Las plantas de melón cantaloupe son

sensibles a las bajas temperaturas y las heladas (Salunkhe & Kadam, 1998) y para su cultivo se prefieren suelos ligeramente ácidos con un pH entre 6.0 y 6.5 con abundante aporte de agua.

El melón cantaloupe presenta frutos precoces de 85-95 días, esféricos y aplanados, con un peso que oscila entre 2-6 libras. Su corteza puede ser de color verde, amarillo, anaranjado y blanco con una textura lisa, reticulada o estriada (Parnell, 2003). El rango óptimo de sólidos solubles para la recolección oscila entre 12 y 14°Brix, ya que por encima de 15°Brix la conservación de la fruta es bastante corta. La temperatura de almacenamiento óptima para el melón maduro es de 56 a 41 °F (2.2 a 5°C) con una humedad relativa entre 95 a 100%. La fruta recién cosechada dura entre 5-15 días, dependiendo de la variedad y las condiciones de crecimiento (Parnell, 2003).

3.1.4 Uva

La uva (*Vitis vinifera L.*), perteneciente a la familia *Vitaceae*, es una especie de *Vitis* nativo de la región mediterránea. El género *Vitis* se cultiva en zonas templadas y predomina en el hemisferio norte. Los géneros relacionados son: *Acareosperma*, *Ampelocissus*, *Ampelopsis*, *Cayratia*, *Cissus*, *Clematicissus*, *Cyphostemma*, *Nothocissus*, *Parthenocissus*, *Pterisanthes*, *Pterocissus*, *Rhoicissus*, *Tetrastigma* y *Yua* (Jackson, 2008). Las uvas se consideran como uno de los cultivos más grandes a nivel mundial, seguido por los cultivos de naranjas, con una producción mundial para el año 2011 de 69,654,925.50 toneladas, siendo China el mayor

productor con 9,174,280.00 toneladas (FAO, 2013). La producción de uva se ha visto extendida en todo el mundo principalmente para consumo fresco en procesamiento industrial (Fernandes et al., 2013).

La planta de uva tiene una altura aproximada de 4 pies (1.3 metros). Se requieren suelos con buen drenaje y suelo franco arenoso con pH neutro para su cultivo (Gough & Gough, 2008). La fruta se presentan en racimos y las bayas son de unos 2 centímetros (0.75 pulgadas) de diámetro. Algunas características del fruto son: color púrpura-negro, rojo-marrón, rojo o verde, dulces, con un almizcle fuerte, piel delgada y cerosa, con una pulpa que contiene dos o cuatro semillas (Gough y Gough, 2008). Las uvas en condiciones atmosféricas normales pueden ser almacenadas de 2-3 días pero su tasa de putrefacción puede alcanzar entre 25 – 30%. Bajo almacenamiento en frío con una humedad del 80% las pérdidas de agua fluctúan entre 10-13%, por lo que el almacenamiento en frío es un factor crítico a la hora de preservar la fruta fresca (Min et al., 2001).

La base de datos de la USDA menciona que 100g de uva proveen 93 Kcal de energía, 5.60g de proteína, 2.12g de grasa, 17.32 g de carbohidratos, 11g de fibra, 6.30g de azúcares totales, 11.1 mg de Vitamina C, 2.0 mg de Vitamina E y 2.362 mg de niacina. Los polifenoles presentes en la semilla aportan un gran valor nutricional, ya que dentro de estos se encuentran los fenólicos monoméricos como: catequinas, epicatequina y epicatequina-3-O-galato estos compuestos actúan como agentes anti-mutagénicos y antivirales (Jayaprakasha et al., 2003).

Los principales azúcares en las uvas son la glucosa y la fructosa pero su contenido varía dependiendo de la especie, variedad, estado de madurez y calidad de la fruta. Generalmente los cultivos de *V. vinífera* alcanzan una concentración de azúcar del 20% o más en la madurez (Jackson, 2000). El color juega un papel importante en las características organolépticas y cualidades de la uva y el mismo está determinado por la composición y contenido de antocianinas presentes, por ejemplo glucósidos (Liang et al., 2011).

3.1.5 Carambola

La carambola (*Averrhoa carambola L.*), perteneciente a las familia de las *Oxalidaceae* es conocida como la fruta estrella. La carambola es originaria de Malasia entre otros países asiáticos y zonas tropicales de América, entre ellos Brasil. Los mayores productores a nivel mundial son: Taiwan, Malasia, Indonesia, Hawaii, Florida y la India (Núñez-Elisea y Crane, 2000).

Los árboles de carambola en habitat natural florecen y producen fruto casi todo el año. Empieza su producción entre los 12 a 18 meses después de plantados y crece en una amplia variedad de suelos desde arenosos, arcillosos o pesados hasta calizos, pero se desarrolla mejor en suelos francos con buen drenaje. Para su desarrollo se recomienda suelos con pH neutro o ligeramente ácido (5.5 – 7.0). Las altas temperaturas promueven su crecimiento en zonas tropicales en donde pueden alcanzar entre 7 - 10 metros de altura (Perez y Valdivia, 2004).

El fruto de carambola es una baya vistosa, de forma ovalada o elipsoide. Posee un color muy atractivo en apariencia con cinco costillas longitudinales que corresponden cada una a un carpelo que proporcionan la forma de estrella en la sección transversal. La cerosa epidermis del fruto es de color amarillo pálido, amarillo brillante o amarillo naranja al madurar. La pulpa es jugosa, ligeramente amarilla y no contiene fibra. Los frutos dependiendo de la variedad tienen un olor muy pronunciado a ácido oxálico y el sabor varía desde agrio, hasta dulce a muy dulce. Los sólidos solubles totales varían de 5 a 14 °Brix.

Se estima que 100 g de carambola ofrecen 91.38 g de agua, 31 Kcal de energía, 1.04 g de proteína, 0.33 g de grasa, 6.73 g de carbohidratos, 2.8 g de fibra, 3.98 g de azúcares totales, 133 mg de potasio y 34.4 mg de Vitamina C (USDA, 2010). Diferentes estudios han identificado 178 compuestos volátiles, 57 ésteres, 9 lactonas y 116 compuestos pertenecientes a la fracción volátil de la carambola. Junto con estos compuestos se encuentran los carotenoides derivados como la megastigma-4 ,6-8-rienos y megastigma-5, 8 y dien-4-ona; los últimos muy importantes en el aroma de la carambola (Bicas et al., 2011).

La carambola puede consumirse en estado fresco, cocinado o procesado. Los frutos frescos ya sean, verdes, sazones o maduros se utilizan para adornar bebidas, ensaladas de fruta, de vegetales o de mariscos. En China y Taiwán, la fruta de carambola se exporta como rebanadas en almíbar (Pérez y Valdivia, 2004).

3.2 Producción de frutas mínimamente procesadas a nivel mundial y en Puerto Rico

Desde el año 1982 al 2004 se ha visto un incremento del 94% en la producción global de frutas y vegetales (Figura 1).

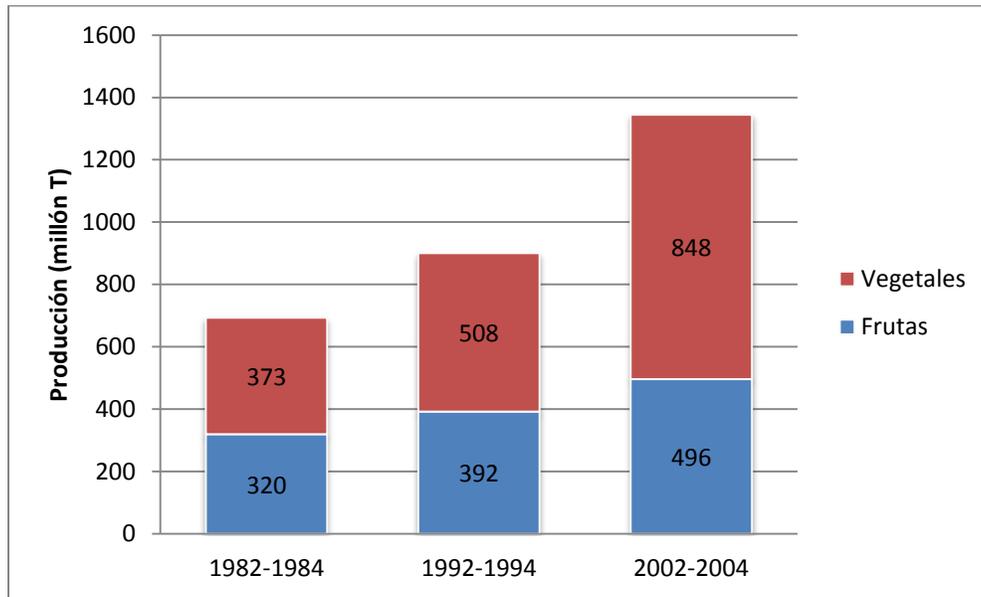


Figura 1. Producción global de frutas y vegetales desde 1982 hasta 2004

Fuente: (Olaimat & Holley, 2012)

Los 5 mayores productores a nivel mundial de frutas y hortalizas son: Chin, India, Brasil, Estados Unidos e Italia (Figura 2).

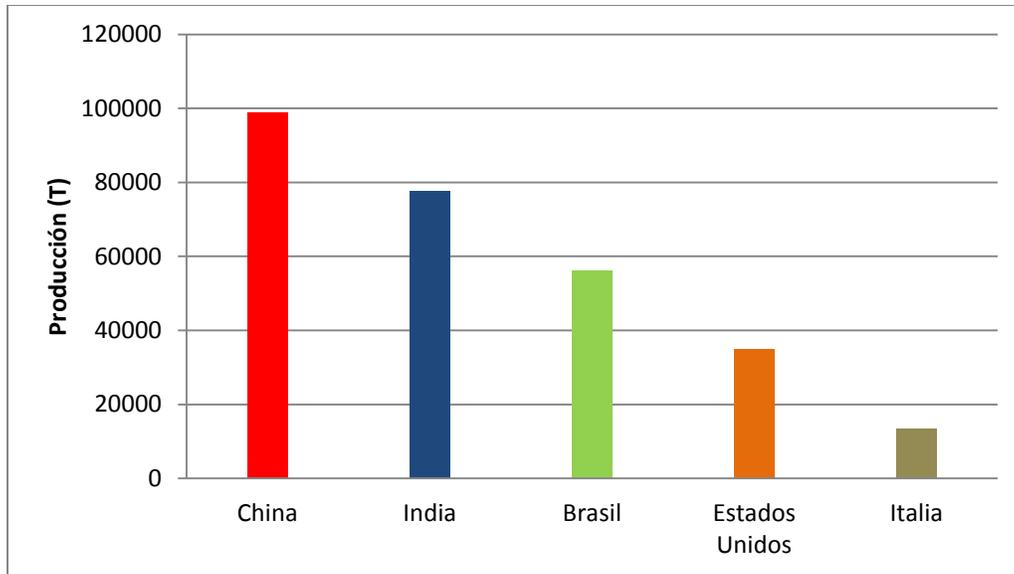


Figura 2. Productores de frutas y hortalizas a nivel mundial

Fuente: (FAO, 2013).

Puerto Rico cuenta con 3,706,690 habitantes. Para cubrir la demanda local de frutas y vegetales. La isla importa gran cantidad de productos agrícolas frescos y elaborados, tanto de Estados Unidos como de otros países (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2009).

Según el Departamento de Agricultura de Puerto Rico, para el año 2010 la producción local de frutas fue de 1,338,320 quintales siendo sus mayores productos plátanos y en su minoría guineos, caña de azul, piña y naranja (Figura 3). Para abastecer la demanda, la fruta importada fue de 15,046,871.

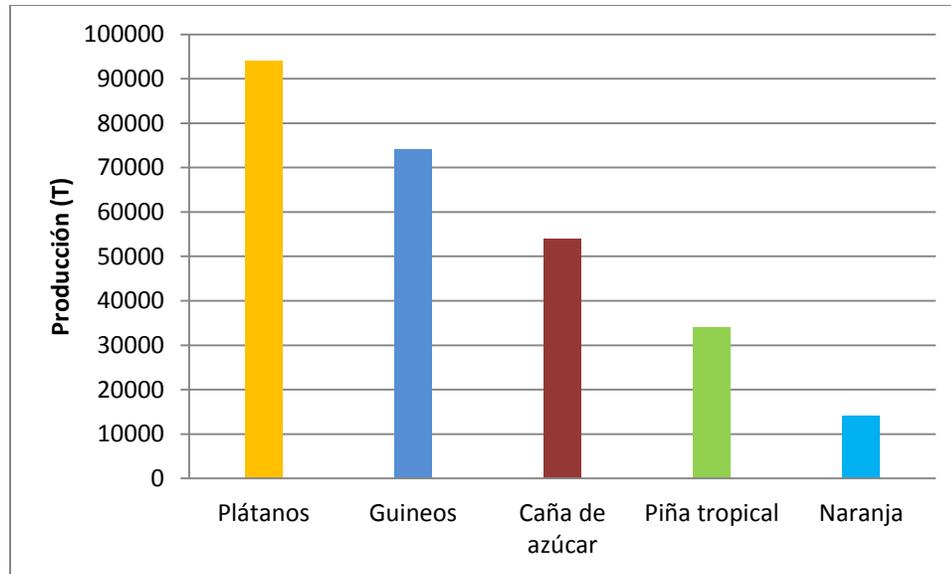


Figura 3. Productos agrícolas producidos en Puerto Rico.

Fuente: (FAO, 2013)

El mercado de frutas y hortalizas frescas mínimamente procesadas está creciendo en la isla y esto abre nuevas oportunidades de consumo, retos de producción y seguridad alimentaria para Puerto Rico.

3.3 Frutas mínimamente procesadas

Según la Asociación Internacional de frutas y vegetales frescos cortados (IFPA, por sus siglas en inglés) las frutas y vegetales mínimamente procesados son cualquier fruta fresca o vegetal o mezcla que ha sido alterado físicamente de su forma original pero sigue en estado fresco. Para el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y Administración de

Alimentos y Drogas es el proceso de corte, lavado, envasado y mantenimiento en condiciones de refrigeración de frutos y vegetales frescos.

El estilo de vida de los consumidores junto con el deseo de productos naturales que prometen beneficios en la salud ha sido el responsable del gran aumento en el consumo de frutas frescas mínimamente procesadas. Esta situación motiva a una búsqueda de metodologías de producción de alimentos con los menores cambios físicos posibles (Oms-Oliu et al., 2010).

Los procesos físicos, fisiológicos y microbiológicos causan un rápido deterioro en los tejidos de la fruta dado que continúan respirando, usando azúcares y almacenando los ácidos orgánicos disponibles (Oms-Oliu et al., 2010). En el procesamiento mecánico se genera daño a la estructura de la fruta, así como en la preparación, transporte y manipulación generando mayor exposición a microorganismos y pérdida de nutrientes que limitan la vida útil de estos productos en el mercado.

Como las frutas mínimamente procesadas deben ser cosechadas en estado maduro se debe asegurar la cadena del frío. Durante la maduración la temperatura, tasa de respiración, pérdida de agua y producción de etileno de la fruta aumentan. Esto tiene como consecuencia que se aceleren las reacciones microbianas acompañado de pérdida de sabor, decoloración de la superficie cortada, pérdida de vitaminas, ablandamiento y corta vida de almacenamiento (Beaulieu y Gorny, 1999).

3.4 Factores y procesos que afectan la calidad de las frutas mínimamente procesadas

3.4.1 Materia prima

La calidad de la materia prima se debe asegurar cumpliendo con unas características específicas para su uso. Algunas de esas normas pueden incluir: que estén exentas de daños y síntomas causados por enfermedades e insectos, la utilización de plaguicidas y/o la presencia de metales tóxicos o compuestos indeseables. Además de la calidad es importante tener en cuenta las condiciones de almacenamiento de estas antes del procesamiento. La manipulación o daño causado por la maquinaria, la contaminación por falta de higiene de los empleados disminuye la calidad. Por lo tanto, es necesario asegurar que el empleado reciba entrenamiento en higiene personal relacionadas a su actividad laboral (Brackett, 1999).

3.4.2 Lavado

Este proceso hace referencia al saneamiento de toda la fruta para eliminar la suciedad, residuos de plaguicidas, residuos vegetales, el suelo y los insectos. Además se eliminan especies patógenas y microorganismos responsables de descomposición, disminuyendo sus niveles iniciales y actividad microbiológica (Sapers, 2001).

Antes de cortar la fruta es necesario lavar y para que sea efectivo. La fruta debe lavarse una vez recién cortada. Este paso reduce al mínimo el riesgo de la presencia de patógenos y de

cualquier residuo de sucio que quede en el producto. La eficiencia de este proceso depende principalmente del deterioro de la materia prima, la duración del tratamiento de lavado, la temperatura del agua de lavado, el método de lavado (inmersión, enjuague, o inmersión/soplado), el tipo y la concentración del desinfectante, y el tipo de fruta fresca de corte o vegetal (Allende et al., 2008).

Los agentes desinfectantes más utilizados son cloro, ozono, ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, alcoholes, ácidos fosfóricos, luz ultra violeta, radiación y ultrasonido. El cloro es el desinfectante más utilizado por su bajo costo y alta efectividad en la reducción de microorganismos en las frutas mínimamente procesadas (Sapers, 2001).

3.4.3 Pelado y corte

En el pelado se elimina el material no deseado o no comestible; mejorando así la apariencia del producto final. Sin embargo, implica una lesión mecánica sustancial al tejido. Al pelar las frutas y vegetales la epidermis se retira dejando al descubierto los tejidos interiores y la pared celular se vuelve susceptible al crecimiento microbiano. Además, aparecen cambios enzimáticos, se aumenta la tasa de respiración y la producción de etileno que produce fugas de líquido de los tejidos, deshidratación, degradación de la membrana celular al exponer enzimas y sustratos (Portela, 2001).

Los cortes dependen del tamaño y forma realizados y a medida que aumenta el área de corte aumenta la exposición del tejido. Estudios realizados por Uez y colaboradores (2005) sobre pelar

y cortar muestran que estos procesos aumentan la tasa de respiración siete veces más en comparación con el mismo producto fresco.

3.4.4. Soluciones de inmersión o recubrimientos comestibles

Las soluciones de inmersión o recubrimientos comestibles permiten extender la vida útil de los productos listos para consumo, al reducir los efectos nocivos causados por un mínimo procesamiento. Estos compuestos retienen humedad, evitan difusión de gases, controlan el crecimiento microbiano, previenen las migraciones de sabor y aroma y proporcionan integridad estructural (Oms-Oliu et al., 2010). Ejemplos: alginato, metilcelulosa, quitosano, eugenol, cisteína, cloruro de calcio, lactato de calcio (Rojas-Graü et al., 2007).

3.4.5. Agentes antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos y aumentan el largo de vida útil (Rahman, 2007). Cada país tiene su propio reglamento sobre agentes antimicrobianos autorizados (FDA, 2006); por ejemplo, ácido acético, láctico, málico, propiónico y tartárico son generalmente reconocidos como seguros para usos diversos.

Los ácidos orgánicos presentes en frutas y verduras de forma natural son: los ácidos acético, cítrico, succínico, málico, tartárico, benzoico y sórbico. Su acción antimicrobiana se debe a la reducción del pH en el medio ambiente, la alteración en la permeabilidad de la membrana

celular, la acumulación de aniones, o una disociación del hidrógeno con el ácido (Alzamora et al., 2000). En estudios recientes se ha demostrado la actividad de aceites esenciales de plantas como antimicrobianos contra varios patógenos. Su actividad se debe a la relación de la composición de los aceites volátiles de la planta, la estructura química, la configuración de los elementos constitutivos de la volatilidad del aceite, sus grupos funcionales y las posibles interacciones sinérgicas entre los compuestos (Dorman y Deans, 2000).

El quitosano es otro agente antimicrobiano muy utilizado. Este es un polisacárido de alto peso molecular presente en las paredes celulares de los hongos y los exoesqueletos de los artrópodos. El quitosano es un conservante y se utiliza para el recubrimiento de frutas y hortalizas. Por sus propiedades, reduce el crecimiento de bacterias fitopatógenas y muchos hongos, e induce la producción de las hidrolasas antifúngicas (Romanazzi et al., 2002).

El quitosano es aprobado como un aditivo natural y anticolesterolémico por sus declaraciones en la etiqueta que asocian su uso general en alimentos según el Ministerio de trabajo y salud de Japón y la FOSHU (alimentos para uso específico en la salud) (FOSHU, 2013).

En el caso de Estados Unidos, reportes recientes afirman que el producto “Chito Clear” ha sido registrado como “auto-reconocido como inocuo” (Self-affirmed GRAS status FDA, 2012), lo que permite su uso como ingrediente alimenticio en ese país.

Actualmente los recubrimientos comestibles que contienen antimicrobianos están ganando importancia como posibles tratamientos para reducir los nocivos efectos impuestos por un mínimo procesamiento de frutas frescas. Estos recubrimientos sirven como portadores de una amplia gama de aditivos, incluidos antipardiamiento, colorantes, sabores, especias y agentes antimicrobianos que extienden la vida útil de los productos (Rojas-Graü et al., 2007).

3.4.6. Sorbato de potasio

El sorbato de potasio es una sal de ácido sórbico. Este es un preservativo alimenticio, eficaz contra mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, coliformes, *Vibrio parahaemolyticus* y bacterias psicotróficas; pero son más eficaces contra microorganismo catalasa positivo, lo que permite su uso para productos que se someten a fermentaciones lácticas, especialmente a un pH de 4.5 o superior (James et al., 2005).

El sorbato de potasio es ligeramente soluble en agua. Su actividad antimicrobiana es mayor a medida que el pH disminuye por debajo de 6.5. Se adiciona a los productos de forma directa, por inmersión, pulverización o en incorporación a los envases. Este preservativo es utilizado en alimentos endulzados artificialmente, pasteles, quesos, bebidas de dieta, rosquillas, frutas y vegetales mínimamente procesados, entre otros. La sustancia es considerada generalmente reconocida como segura según el 21 CFR 182.3089, 21 CFR 182.3225, 21 CFR 182.3640, y 21 CFR 182.3795 (Davidson et al., 2001).

Tabla 1. Productos alimenticios en los que se utilizan los sorbatos y concentraciones típicas de uso

Fuente: (Davidson et al., 2001)

Productos Alimenticios	Concentraciones de uso (%)
Jarabe y bebidas	0.1
Pasteles y glaseados	0.05-0.10
Quesos y otros	0.2-0.3
Cidra	0.05-0.10
Frutas secas	0.02-0.05
Bebidas de frutas	0.025-0.075
Margarina	0.1
Rellenos de pasteles	0.05-0.10
Alimentos de mascotas, semihumedos	0.1-0.3
Aderezos para ensaladas	0.05-0.10
Ensaladas, frutas y verduras frescas	0.05-0.10
Vino	0.02-0.04

3.4.7. Agentes antioxidantes

Los compuestos antioxidantes juegan un papel importante como factores de protección de la salud ya que reducen el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y las enfermedades del corazón. La principal característica de un antioxidante es su capacidad para atrapar los radicales libres. Estos compuestos actúan sobre los radicales libres como el peróxido e

hidroperóxido inhibiendo el mecanismo oxidativo que conduce a enfermedades degenerativas (Hatamnia et al., 2014).

La oxidación en frutas y vegetales es el principal trastorno fisiológico que provoca la disminución de la calidad sensorial y vida útil de las frutas mínimamente procesadas (Luo et al., 2011). Esta reacción suele ser catalizada por la polifenol oxidasa (PPO) y el producto que se obtiene es la formación de la melanina. La melanina es la responsable del oscurecimiento en la mayoría de las frutas y vegetales. Uno de los agentes antioxidantes más estudiados ha sido el ascorbato de calcio, el cual juega un papel fundamental en las señales celulares relacionadas con las especies de oxígeno activas (Aguayo et al., 2010). Soluciones acuosas que contengan aminoácidos como la N-acetilcisteína y glutatión han demostrado inhibir el pardeamiento en frutas recién cortadas como manzana y papaya (Oms-Oliu et al., 2008).

Los ácidos carboxílicos como el ácido oxálico y cítrico también inhiben las reacciones de oxidación. Reportes en litchi (*Litchi chinensis Sonn.*) muestran que el ácido oxálico controla el pardeamiento en esta fruta durante la postcosecha (Zheng & Tian, 2006). El ácido oxálico tiene afinidad para formar complejos con iones de cobre, que es un quelante de los sitios activos de la PPO, inhibiendo su reacción. La sustancia 4-hexylresorcinol y la cisteína interactúa con PPO para hacer un complejo inactivo incapaz de catalizar la reacción de pardeamiento (Guerrero-Beltrán et al., 2005).

3.4.8. Agentes que mantienen la textura en frutas mínimamente procesadas

Durante las operaciones de corte, la superficie de la fruta se daña y se liberan gran número de enzimas que se degradan creando un ablandamiento de la fruta. Las principales enzimas son la pectinametilesterasa y poligalacturonasa las cuales generan metanol como producto. Existen varios agentes que proveen estabilidad y firmeza a la pared celular del tejido de la fruta, uno de ellos es el calcio. Cuando se hace inmersión en una solución de calcio en frutas mínimamente procesadas se mejora la estabilidad de la membrana, reduciendo la senescencia (Luna-guzma y Barrett, 2000). En un estudio realizado por Lamikanra y Watson (2007) en melón cantaloupe se encontró que al adicionar calcio a las frutas después de ser cortadas se mejora la firmeza e inhibe la actividad de la lipasa. Luna - Guzma y colaboradores (1999) informaron que una concentración de 0.125% de cloruro de calcio mantiene la textura crujiente del melón durante el almacenamiento a 2°C. Sin embargo, el uso de cloruro de calcio es beneficioso para la textura pero puede impartir diferencias de sabor al producto. Otros estudios recomiendan la utilización de lactato de calcio como agente reafirmante. Luna-guzma y Barrett (2000) adicionaron lactato de calcio a cantaloupes y demostraron el efecto del mismo sobre la firmeza sin reportar de diferencias en sabor. El propionato de calcio también puede utilizarse como aditivo antimicrobiano en melón honeydew debido a su capacidad de formar ácidos en solución (forma no disociada) y para desacoplar el transporte microbiano de sustratos y la fosforilación oxidativa (Saftner et al., 2003).

3.4.9. NatureSeal®

El NatureSeal® es una cobertura comercial basada en celulosa que se ha usado en formulaciones para retardar la maduración en tomates y mangos (Tharanathan, 2003). La cantidad que se usa depende del peso y del producto a tratar. Esta cobertura es fácil de realizar y permite la adición de sustancias en su formulación para mejorar las propiedades de barrera y alargar la vida útil de frutas mínimamente procesadas.

Estudios han demostrado que NatureSeal® puede reducir pardeamiento en rodajas de frutas frescas cortadas (Alegre et al., 2013), preservar la textura, sabor, apariencia, nitidez y color de las frutas mínimamente procesadas a temperaturas bajas por encima del punto de congelación. Rupasinghe y colaboradores (2005) estudiaron la firmeza de rebanadas de manzana tratadas con NatureSeal®, estas permanecieron sin cambios durante 21 días de almacenamiento a 4°C, pero se observó un ligero aumento en la firmeza después de 4 y 6 meses de almacenamiento. Este aumento en la firmeza pudo ser debido al Ca (ascorbato de calcio). Recientemente, Gormley y colaboradores (2009) confirmaron que los inhibidores AS1 y AS5 de NatureSeal® en rebanadas de manzanas Bramley en solución al 6% y con un tiempo de inmersión de 2 min resultaron altamente eficaces en mantener el color de la manzana fresca cortada. Además se observó aumento de la firmeza durante 5 días de almacenamiento entre 2-4 °C.

3.4.10. Empaque

El empaque es una operación final dentro del procesamiento de frutas y vegetales que permite que estas sean distribuidas al consumidor. El empaque bajo atmósferas modificadas busca la utilización de un material de empaque adecuado e implica la alteración de los gases presentes en la atmósfera del alimento mediante el uso de mezcla de gases. El objetivo de la atmósfera modificada es crear un equilibrio óptimo de gas en el interior del empaque donde la actividad de respiración del producto sea tan baja como sea posible y asegurar que el oxígeno (O_2) y la concentración de dióxido de carbono (CO_2) no sean perjudiciales para el producto. En general, se recomienda una atmósfera compuesta de 5.2% CO_2 , 2.5% O_2 y el resto de nitrógeno para frutas mínimamente procesadas (Jongen, 2002).

La presión parcial de O_2 en el empaque bajo atmósferas modificadas reduce el metabolismo respiratorio y la producción de etileno; generando una acumulación de CO_2 en el interior del empaque que actúa como un inhibidor de la respiración y la producción de etileno. De esta forma se aumenta el período de vida útil del producto sin pérdida de la calidad (Jongen, 2002). En las atmósferas modificadas son utilizados los siguientes gases:

Dióxido de carbono: Se disuelve fácil con agua para producir ácido carbónico que aumenta la acidez (reduciendo el pH). En altas concentraciones puede causar el aplastamiento del paquete debido al descenso de la presión que ejerce el CO_2 en el interior del empaque.

Oxígeno: Es altamente reactivo. Promueve las reacciones de pardeamiento, por lo tanto, se debe utilizar en concentraciones bajas.

Nitrógeno: es poco reactivo, sin olor, inhibe el crecimiento de bacterias aeróbicas pero no impide el crecimiento de bacterias anaeróbicas. La baja solubilidad del nitrógeno en los alimentos se utiliza para prevenir el aplastamiento del empaque.

Recientemente Rocculi y colaboradores (2009) mostraron que una mezcla de gases entre 87.14 kPa de N₂, 10.13 kPa de CO₂ y 4.05 kPa de O₂ redujo la tasa de respiración, producción de etileno, textura, modificaciones de color y crecimiento microbiano, así como el deterioro sensorial de piña almacenada a 4°C durante 7 días. Estudios han demostrado que tratamientos con atmósferas modificadas (5% O₂ + 5% CO₂ + 90% N₂) dan mejor calidad sensorial y vida útil más larga en zanahorias, entre 2-3 días más que otros tratamientos (Mohammad & Naimeh, 2014).

La Tabla 2 muestra las concentraciones ideales de mezcla de gases para distintas frutas y vegetales. Además de la mezcla de gases es vital el mantenimiento de temperaturas bajas para los productos agrícolas y un polímero o lámina ideal que beneficie la reacción entre la tasa de respiración de la fruta y las características de difusión del gas. Esto mantendrá una atmósfera apropiada dentro del empaque. Los principales beneficios del envasado en atmósferas modificadas son la prevención y retraso de la maduración de la fruta, retención de humedad, protección de daños mecánicos y minimización de la incidencia de trastornos bioquímicos y fisiológicos (Gómez y Artés, 2005).

Tabla 2. Concentración de gases recomendada**Fuente: (Kendra, 2010)**

Producto	O₂%	CO₂%	N₂%
Fruta			
Manzana	1-2	1-2	95-98
Albaricoque	2-3	2-3	94-96
Aguacate	2-5	3-10	85-95
Banano	2-5	2-5	90-96
Uva	2-5	1-3	92-97
Pomelo	3-10	5-10	80-92
Kiwis	1-2	3-5	93-96
Limon	5-10	0-10	80-95
Mango	3-7	5-8	85-92
Naranja	5-10	0-5	85-95
Papaya	2-5	5-8	87-93
Melocotón	1-2	3-5	93-96
Pera	2-3	0-1	96-98
Piña	2-5	5-10	85-93
Fresa	5-10	15-20	70-80
Vegetales			
Alcachofa	2-3	2-3	94-96
Habichuelas	2-3	5-10	87-93
Brocoli	1-2	5-10	88-94
Coles de Bruselas	1-2	5-7	91-94
Col	2-3	3-6	81-95
Zabahoria	5	3-4	91-95
Coliflor	2-5	2-5	90-96
Chilipeppers	3	5	92
Maiz Dulce	2-4	10-20	76-88
Pepino	3-5	0	95-97
Lettuce (leaf)	1-3	0	97-99
Hongos	3-21	5-15	65-92
Espinaca	Air	10-20	---
Tomate	3-5	0	95-97
Cebolla	1-2	0	98-99

Los factores que afectan mayormente las atmósferas modificadas son: espacio libre de aire en el empaque (que conduce al aumento a la resistencia a la difusión de gas), temperatura (frutas sensibles a temperatura, permeabilidad del empaque aumenta con temperatura), humedad relativa, condensación en la película del empaque (impulsada por las fluctuaciones de temperatura), luz, golpes y vibraciones (provocan aumento de la respiración y conducen a la liberación de la PPO causando reacciones de pardeamiento) (Kendra, 2010).

3.5 Patógenos humanos relacionados en productos frescos

Las frutas y vegetales mínimamente procesados son vehículo para la transmisión de bacterias, parásitos y patógenos virales capaces de causar enfermedades en seres humanos. Debido al pH bajo de las frutas, la flora típica son hongos y levaduras (Oms-Oliu et al., 2010). Sin embargo, el consumo de frutas frescas cortadas ha sido asociado con enfermedades transmitidas por alimentos debido algunas bacterias patogénicas entre ellas se encuentran: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* (Abadias et al., 2008), *Shigella spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* y *Staphylococcus aureus*..

La presencia de un área de superficie de corte ofrece una rica fuente de nutrientes y la humedad dentro del empaque unido a la temperatura del producto, tiempo, humedad relativa del ambiente y factores tales como: pH, contenido de agua, hacen un entorno propicio para el crecimiento de patógenos. Sin embargo, la carga microbiana depende del tipo de vegetal o fruta, el medio ambiente, la estacionalidad, las condiciones del cultivo, la presencia de tierra que

acompaña al producto, el manejo poscosecha y la variabilidad del producto (Rico et al., 2007). A continuación se presenta una lista de algunos patógenos típicos en frutas y vegetales frescos:

3.5.1. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes es un patógeno psicotrófico, bacilo gram positivo, anaerobio facultativo, capaz de proliferar en un amplio rango de temperaturas y una elevada concentración de sal. Sus temperaturas mínimas de crecimiento se encuentran entre 0 - 4°C, pH mínimo de 4.5-5, y no se ve influenciado por la aplicación de atmósferas modificadas.

Se considera un patógeno ubicuo que se ha aislado del suelo, excrementos, aguas residuales, abono, agua, barro, heno, alimentos para animales, polvo y pájaros. Por lo tanto, puede encontrarse en forma natural en muchas frutas y hortalizas frescas contaminadas a través de malas prácticas agrícolas (Alegre, 2012). Ragaert Peter (2003) mostró el posible crecimiento de *L. monocytogenes* en empaques bajo atmósfera modificada de verduras recién cortadas. Muchos autores han demostrado que un nivel de CO₂ superior de 15 % promueve el crecimiento de *Listeria spp.* (Scifò et al., 2009). Además, es conocido que cuando *L. monocytogenes* se inocula en las frutas y verduras, es capaz de sobrevivir y crecer a bajos porcentajes de O₂.

La listeriosis es una infección bacteriana causada por *L. monocytogenes*. La condición puede causar gastroenteritis, fiebre, dolor muscular y náuseas. Los grupos de riesgo en caso de listeriosis son las mujeres embarazadas, los ancianos y los inmunocomprometidos. En mujeres

embarazadas puede producir la muerte del feto o un parto prematuro. Para ancianos e inmunocomprometidos la enfermedad puede causar bacteremia y meningitis. La tasa de mortalidad es del 30% en países industrializados (Alegre, 2012).

3.5.2. *Salmonella*

Salmonella spp. es un patógeno mesófilo fecal, bacilo gram-negativo del género *Salmonella* que es parte de la familia *Enterobacteriaceae*. Este patógeno se transmite a través de alimentos y agua contaminada, así como el contacto con animales infectados. Las infecciones por *Salmonella* se han relacionado con el consumo de carnes crudas, aves, huevos, leche y productos lácteos, pero su crecimiento en verduras recién cortadas es principalmente provocado por el abuso de la temperatura ($T > 10$ a 12 °C). La tasa de crecimiento se ve reducida a menos de 15 °C y el crecimiento se impide a menos de 7 °C. Además de que los bajos pH de las frutas limitan su crecimiento (Ragaert Peter, 2003).

Los síntomas de la salmonelosis son diarrea, fiebre y calambres abdominales que ocurren de 12 a 72 h después del consumo de alimentos que contiene *Salmonella*. La enfermedad es generalmente auto limitada, dura menos de una semana y no requiere tratamiento; en algunos casos, en ancianos, o niños o personas con sistemas inmunocomprometidos la diarrea se vuelve tan severa que se requiere hospitalización. Producen el tifo y la fiebre tifoidea en los humanos. La tasa de mortalidad de la fiebre tifoidea es del 10% comparada con menos del 1% para la mayoría de las formas de salmonelosis ocasionada por *S. typhi* y *S. paratyphi* A, B y C. Por otra

parte, *S. dublin* tiene una tasa de mortalidad del 15% cuando se presenta septicemia en los ancianos, mientras que la de *S. enteritidis* es de aproximadamente 3.6% en los brotes ocurridos en los hospitales y las guarderías, siendo los ancianos los más afectados (Finstad et al., 2012).

3.5.3. *Escherichia coli*

E.coli es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo, no formador de esporas que se encuentra ampliamente distribuido en el intestino de los seres humanos y los animales. Esta especie contiene numerosas cepas virulentas que pueden causar enfermedades en los seres humanos. El grupo de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) también conocido como productor de toxina Shiga (STEC) contiene varios serogrupos. Uno de ellos es *E. coli* O157: H7, el más frecuente en las infecciones humanas (Ragaert Peter, 2003).

La condición causada por esta bacteria llega a los humanos por contacto directo o indirecto con animales infectados o por medio de alimentos contaminados o agua potable. *E. coli* O157: H7 ha sido tradicionalmente asociada a los brotes de enfermedades relacionadas con los productos de carne pero esta cepa también ha surgido recientemente como un patógeno asociado con productos frescos.

E. coli O157:H7 crece en los productos a temperaturas altas y sobrevive a temperaturas de refrigeración. Su dosis infecciosa se encuentra entre 10 a 100 UFC/g lo que la hace un riesgo para la salud pública (Ragaert Peter, 2003).

Muchas cepas de *Escherichia coli* como lo es *E.coli* enterohemorrágica (O157:H7) producen una variedad de potentes toxinas, incluyendo toxinas Shiga (STEC), conocida también

como verotoxina, que han sido identificadas como causa de enfermedades gastrointestinales en humanos, a menudo con complicaciones severas y problemas que incluyen diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica (HC) y la condición de síndrome urémico hemolítico (SUH) (Wang et al., 2002).

3.6 Directrices microbiológicas para frutas y vegetales frescos

La proliferación microbiológica se caracteriza por la producción de enzimas y metabolitos que resultan en defectos visuales, textura y malos olores. Esto se ve afectado principalmente por la composición de frutas o verduras. Por ejemplo, productos ricos en azúcar como las frutas cortadas se ven influenciadas mayormente por el crecimiento de levaduras y bacterias ácido lácticas resultando en olores desagradables que causan la proliferación microbiana y la producción de ácidos como lo son láctico, acético, málico, succínico y pirúvico (Ragaert Peter, 2003). La Tabla 3 muestra una guía para determinar los niveles tolerantes de microorganismos para frutas frescas.

Tabla 3. Directrices microbiológicas para las frutas fresca

Fuente: (Ragaert Peter, 2003)

Parámetro	Rango ^c UFC/g	Tolerancia ^d UFC/g	Antes de la Fecha ^e (UFC/g)
Recuento total aerobio, psicotróficos ^a	10^5	10^6	10^7
Bacterias Acido lácticas ^b	10^3	10^4	10^7
Levaduras	10^3	10^4	10^5
Mohos	10^2	10^3	10^3

^a Se incubó durante 5 días a 22°C.

^b Cuando el número de bacterias de ácido láctico en la fecha de consumo es mayor que 10^7 /g de los productos alimenticios sólo pueden ser rechazado a condición de que haya desviaciones sensoriales inaceptables

^c Rango: es la pauta para el día de producción, son las mejores condiciones de producción.

^d La tolerancia es la pauta máxima para el día de producción.

^e “Mejor antes de la fecha” es el final de la vida útil, por encima de estas directrices se producirá notables deterioro.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Obtención de la materia prima

Las muestras de melón cantaloupe, mango, piña, naranja, uva, mandarina y carambola (Figura 4) se obtuvieron de un supermercado en el área de Mayagüez, Puerto Rico. Las carambolas fueron obtenidas de una finca del mismo pueblo. El aditivo NatureSeal® fue obtenido de la empresa Natureseal Inc, y los preservantes sorbato de potasio y el ácido ascórbico fueron adquiridos de Kalmia Distributors, Inc.



Figura 4. Frutas utilizadas para la elaboración de la mezcla

4.2 Preparación de las muestras

La investigación fue realizada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, perteneciente a la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. Se seleccionaron todas las frutas de acuerdo a su tamaño y posteriormente fueron lavadas con agua potable y desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% por 5 minutos. El melón cantaloupe, el mango, piña y naranja fueron peladas manualmente con un cuchillo de acero inoxidable y cortadas en trozos de aproximadamente 2 cm x 2cm x 2cm. La carambola fue cortada en pedazos de 1cm de ancho. La mandarina fue pelada y dividida en gajos. La uva se lavó y utilizó posteriormente sin ningún otro tratamiento.

4.3 Mezcla de frutas

Las frutas fueron mezcladas en iguales proporciones y se dividió en dos lotes con igual cantidad en peso de fruta. La mitad del lote no contenía ninguna solución de inmersión y la otra mitad contenía la solución de inmersión (NatureSeal® y sorbato de potasio). En total se procesaron tres lotes que contenían 18 bandejas cada uno.

4.4 Adición de solución de NatureSeal® y sorbato de potasio

Las concentraciones de sorbato de potasio y NatureSeal® se determinaron realizando pruebas preliminares. Se observó que al diluir el sorbato de potasio en agua junto al NatureSeal® se presentaba un precipitado de partículas las cuales no se disolvían fácilmente en este medio.

Todas las soluciones fueron ajustadas a un pH de 6.5 con ácido ascórbico 1M. El NatureSeal® fue utilizado según especificaciones de manufacturero (4tps en 1L de agua).

De acuerdo a lo anterior se determinaron varias concentraciones preliminares (Tabla 4 y Figura 5).

Tabla 4. Concentraciones preliminares de NatureSeal® y sorbato de potasio

Concentraciones preliminares	Resultado
NatureSeal® , sorbato de potasio 0.1% y ácido ascórbico 1M	Precipitación de sorbato
NatureSeal®, sorbato de potasio 0.05% y ácido ascórbico 1M	No precipitado
0.5% NatureSeal®, sorbato de potasio 0.1% y ácido ascórbico 1M	Precipitación de sorbato
0.5% NatureSeal®, sorbato de potasio 0.05% y ácido ascórbico 1M	No precipitado

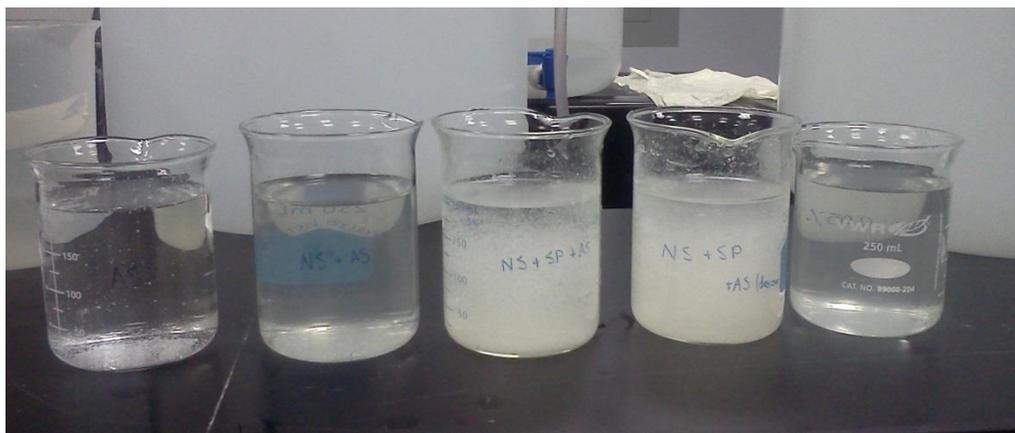


Figura 5. Diferentes soluciones de NaturaSeal® y sorbato de potasio

De las concentraciones antes mencionadas, se tomó como solución de inmersión para la mezcla de frutas la concentración de NatureSeal® 0.5% (p/v) y sorbato de potasio 0.05%,

ajustada a pH 6.5 con ácido ascórbico 1M con 1minuto de inmersión (Figura 6), la cual no presentaba precipitado.

El tiempo de inmersión descrito de 1min se determinó realizando una prueba sensorial diferente al control (en términos de sabor) en la cual se entregaba al panelista 5 muestras de melón cantaloupe, evaluando cuan diferente era cada muestra del control (melón cantaloupe fresco). Los cinco tratamientos eran: (1) NatureSeal[®] 1min de inmersión, (2) NatureSeal[®] 2min, (3) 0.05% sorbato de potasio 1min, (4) 0.5% NatureSeal 2min, (5) control. Los resultados se evaluaron estadísticamente (Ver Apéndice 9.1.8), determinando que solo el tratamiento 5 presentó diferencias significativas frente al 4. Por lo anterior se escogió que el tiempo de inmersión de la solución fuese 1min el cual no presentó diferencia en sabor frente a un melón cantaloupe fresco.



Figura 6. Solución de inmersión de la mezcla de frutas

4.5 Empaque

Para la determinación del empaque se realizaron pruebas preliminares con tres tipos de empaque: bolsas Ziploc®, Food Saver® al vacío y bandeja de polipropileno con polietileno y con atmósfera de aire y nitrógeno. Se realizaron pruebas para la determinación de microorganismos aerobios totales, hongos y levaduras, siguiendo las directrices microbiológicas para las frutas fresca (Ragaert Peter, 2003). Se escogió el empaque que estuviera dentro de los rangos de tolerancia (UFC/g) y presentara mayor largo de vida útil. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Empaques preliminares

TRATAMIENTO	DIAS	
	CT	ST
Bolsa Ziploc®	21	12
Food Saver® al vacío	30	21
Bandeja de polipropileno con polietileno/ nitrógeno	35	22
Bandeja de polipropileno con polietileno/ aire	22	22

CT: solución de inmersión

ST: sin solución de inmersión (control)

De acuerdo a los resultados preliminares se utilizaron 500g de mezcla de frutas los cuales fueron pesados con una balanza Sartorius ELT601, en bandejas de polipropileno con polietileno. Estas bandejas se sellaron con una lámina hecha de poliéster con polietileno (PET/PE/Seal Layer) usando el equipo Koch Ultra Source (modelo No. VG100, serial FP8488, Voltaje 220V) con nitrógeno como atmósferas modificada (Figura 7 y 8). Las condiciones de operación fueron: presión neumática (aire comprimido) 5lb, 10 psi de nitrógeno, sellado: nitrógeno 4kPa, vacío 4kPa de presión, temperatura 1: 180°C y temperatura 2: 107°C.



Figura 7. Empaques utilizados como preliminares



Figura 8. Sellado de bandejas

4.6 Almacenamiento

Las bandejas empacadas bajo atmósferas modificadas fueron almacenadas a 5°C. Una muestra (bandeja) fue analizada por cada tratamiento. El muestreo al azar se realizó cada 4 días por un periodo de 32 días (Figura 9 y Figura 10).



Figura 9. Almacenamiento de mezcla de frutas bajo atmósferas modificada a 5°C.

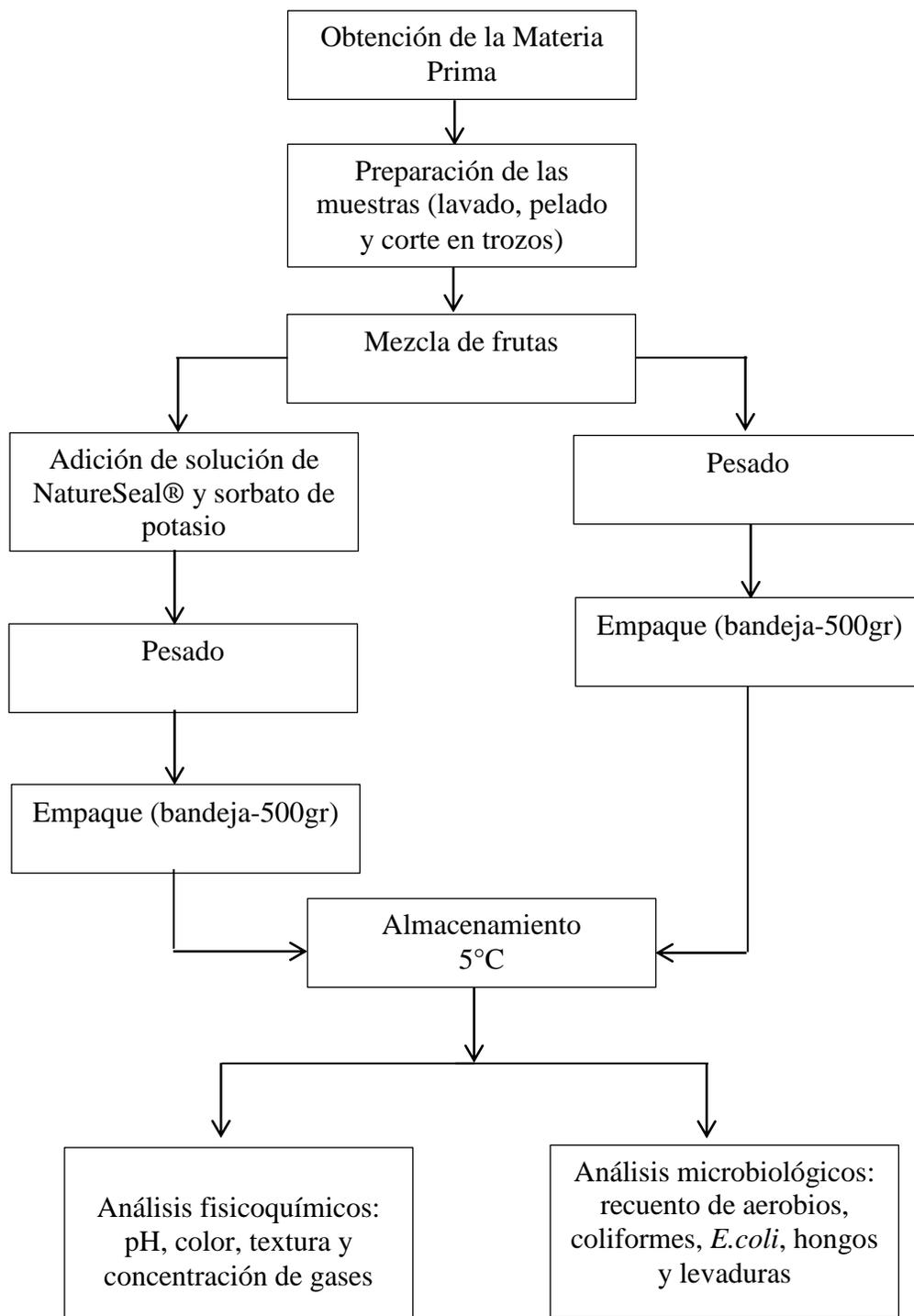


Figura 10. Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de mezcla de frutas mínimamente procesadas bajo atmósfera modificada

4.7 Análisis fisicoquímico

4.7.1 pH

El pH se determinó utilizando como instrumento de medición el potenciómetro (Docu-pH Meter de Sartorius), previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 4.0, 7.0 y 10.0 de Fisher Scientific. Las lecturas se hicieron por triplicado. Para la lectura se tomaron 10 gramos de la muestra (mezcla de frutas con y sin solución de inmersión) la cual fue homogenizada con 10ml de agua destilada en el Stomacher (Laboratory Blender Stomacher 400 de Seward) durante 2 minutos. El pH fue medido mediante inmersión directa del electrodo a la muestra anteriormente homogenizada.

4.7.2 Color

Para medir color se utilizó el colorímetro HunterLab MiniScan XE en la escala del sistema Hunter L, a y b (con iluminando D65 y ángulo de observación 10°). El colorímetro se calibró previamente con platos estándares de porcelana negro y blanco. Se tomaron muestras de 2x2x2 cm de una muestra representativa de todas las frutas. Se registraron las variables L, a y b donde L representa luminosidad, con valores que van desde 0% para negro hasta 100% para blanco, a indica la variación entre el verde (-a) y rojo (+a) y b representa cambios en color entre azul (-b) y amarillo (+b). Los valores L, a y b fueron usados para calcular Hue que corresponde al tono del color hue (h) = arc tangente (b/a) y toma valores de 0 a 360° y Chroma que corresponde a la saturación del color calculado como $C = (a^2 + b^2)^{1/2}$ el cual toma valores con un

rango de 0 a 60 (McGuire, 1992). Las ecuaciones utilizadas para los cálculos de Hue y Chroma fueron:

$$C = \sqrt{(a * b) + (b * b)} \text{ y } \theta = \text{Tan}^{-1} (b/a) / 6.2832) 360^{\circ}$$

4.7.3 Textura

Las mediciones del perfil de textura se realizaron usando un texturometro TA-XT2 (Stable Micro System). Se utilizó una celda de carga de 5.0Kg para calibrarlo y una sonda esférica (probe TA212 magness w/3.6 y 11mm de diámetro). La fuerza de corte se determinó en trozos geoméricamente iguales de 2x2x2 cm siendo las condiciones de operación las siguientes: velocidad de preensayo 5 mm/s, velocidad de ensayo 1mm/s, velocidad post ensayo 5mm/s, distancia 10mm y tiempo entre compresión 5 seg. Se aplicó la secuencia de análisis de perfil de textura (compresión en un ciclo) y se evaluaron los parámetros instrumentales para dureza (deformación). Esta prueba se realizó por triplicado.

Como producto de la investigación los resultados en el equipo se muestran mediante una gráfica fuerza-deformación (Figura 11). El dato utilizado para determinar la dureza es la fuerza máxima definido como el valor de la fuerza medido en Newton (N) necesaria para producir la fractura de la superficie del fruto. En la gráfica es el punto máximo que alcanza la curva y corresponde al punto de ruptura del tejido.

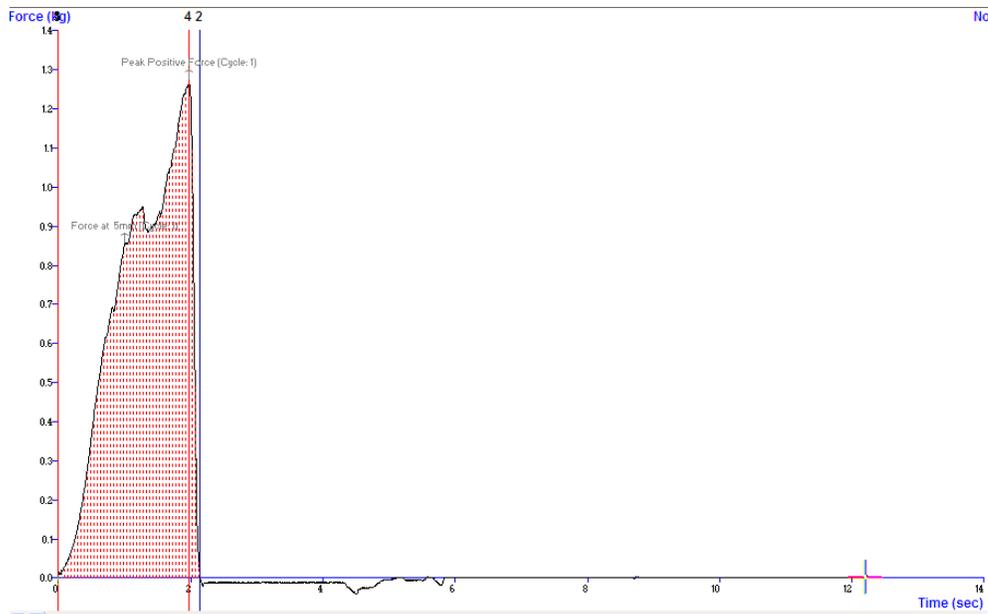


Figura 11. Curva fuerza-deformación

4.7.4 Composición de gases en el espacio libre de la bandeja

Los cambios en la concentración de O_2 y CO_2 de las bandejas con solución de inmersión y sin solución (control) se midieron utilizando el equipo Servomex minifoodpack 5200 serial No. 05240A1/10261. Para estas mediciones se insertó una aguja en la bandeja de muestreo a 1cm en el espacio libre entre la lámina de poliéster con polietileno y la mezcla de frutas. Esta máquina efectúa succión del aire presente en el empaque por 9 segundos. Posteriormente el equipo registró el valor de % de O_2 y CO_2 presentes en la atmósfera modificada. Esta prueba fue periódicamente monitoreada durante los 32 días de almacenamiento (Figura 12).



Figura 12. Ensayo inicial de empaque con aire y nitrógeno

Las condiciones iniciales de empaque bajo atmósfera modificada se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de CO₂ y O₂ iniciales

Empaque	%CO ₂	%O ₂
Aire	0.0	21.1
Nitrógeno	0.0	0.9

4.7.5 Pérdida de peso

La pérdida de peso de la mezcla de frutas mínimamente procesadas se determinó en una bandeja por cada tratamiento. La bandeja se pesó inmediatamente después de la elaboración (día 0 o peso inicial) y posteriormente se comparó con los pesos de las muestras durante los 32 días de almacenamiento mediante el uso de una balanza digital Sartorius ELT601.

El porcentaje de pérdida de peso fue determinado de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%Ml(t) = \frac{M0 - M(t)}{M0} * 100$$

donde% Ml (t) es la pérdida de masa en porcentaje en el tiempo t, M0 es la inicial o masa de la muestra y M (t) es la masa de la muestra en el tiempo t (Costa et al., 2011).

4.8 Análisis microbiológico

El análisis de microorganismos se llevó a cabo mediante el uso de los procedimientos establecidos por el Bacteriological Analytical Manual (BAM por sus siglas en inglés) (FDA, 2001). Se tomaron 25 g de muestra la cual se homogenizo con 225 ml de agua de peptona 0.1% en el Stomacher (Laboratory Blender Stomacher 400 de seward) durante 2 minutos. Se realizaron diluciones en serie desde 10^{-1} hasta 10^{-6} , cada una por duplicado. El reporte se hizo como Log UFC (Logaritmo de Unidades Formadoras de Colonias)/gramo.

4.8.3 Recuento de aerobios totales

Para la determinación de aerobios totales se utilizó el método convencional de recuento total de aerobios en plato, explicado en el capítulo tres del BAM. Para la determinación de aerobios totales se utilizó 3M petrifilmTM Aerobic Count Plates (AC), ajustando el pH de la muestra diluída entre 6.5 – 7.5 con NaOH 1N. Las láminas se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 h \pm 2h (Ver Apéndice 9.2.1) y según el método oficial de la AOAC 990.12 (Silva et al., 2012).

4.8.4 Recuento de hongos y levaduras

Para el recuento de hongos y levaduras se utilizó 3M petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates (YM). Las láminas se incubaron a 25° C por 5 días (Ver Apéndice 9.2.2) y siguiendo el método oficial de la AOAC (2002b).

4.8.5 Recuento de coliformes y *E. Coli*

Para el recuento de coliformes totales y *E. coli* se utilizó 3M petrifilm™ E.coli/coliform Count Plate (EC), ajustando el pH de la muestra diluída entre 6.5 – 7.5 con NaOH 1N. Las láminas fueron incubadas por $24\text{h} \pm 2\text{h}$ a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para coliformes y $48\text{h} \pm 2\text{h}$ at $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para la presencia de *E.coli*. La interpretación de conteo se realizó de acuerdo a lo descrito en el método Oficial de la AOAC (2002a) y el fabricante (Ver Apéndice 9.2.3).

4.9 Diseño experimental

Los datos se analizaron utilizando un diseño de bloques completamente aleatorizados con efectos fijos, donde las unidades son homogéneas. Este diseño consiste en asignar los tratamientos aleatoriamente dentro de cada bloque de manera tal, que cada tratamiento sea representado una vez en cada bloque; tratamientos (control (1) y tratamiento (2) NatureSeal® y sorbato de potasio, cada uno con 9 repeticiones (días = bloques). En este caso Y_{ij} denota la observación del i -ésimo tratamiento en el bloque j .

La hipótesis de interés acerca de los efectos de tratamiento es:

$$H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_i$$

$$H_a: \text{: al menos una } \alpha_i \text{ es diferente de } 0$$

Las variables de respuesta consideradas para el diseño experimental estadístico fueron el recuento de aerobios totales, recuento de hongos y levaduras, pH, color, textura, composición gaseosa del empaque y pérdida de peso. Los resultados se presentan en tablas y gráficos descriptivos. Se utilizó valores de medias y sus desviaciones estándar (S) para determinar la exactitud de las medidas y análisis de varianza y verificación de los supuestos del ANOVA. Para establecer diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó un nivel de significancia del 95% ($\alpha=0.05$) y se realizó una comparación de medias utilizando la prueba de LSD Fisher. El programa utilizado para el análisis estadístico de los datos fue Infostat (2010). Las salidas de las variables de respuesta se muestran en el Apéndice 9.1.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis fisicoquímico

5.1.1 pH

Los valores de las medias de pH de la mezcla de frutas mínimamente procesadas variaron entre 3.90 – 4.16 para los tratamientos 1 y 2, en el periodo de 32 días de almacenamiento. Por lo que se observa, no hubo diferencias entre tratamientos ($p>0.05$). La Tabla 7 muestra las lecturas de pH a lo largo del tiempo, se puede apreciar que hasta el día 12 hay un aumento progresivo de pH para los dos tratamientos posiblemente debido a las reacciones metabólicas de los sustratos o azúcares presentes en las frutas (Torres et al., 2013). Posteriormente desciende llegando a tener en los dos tratamientos el mismo rango de valores de pH para el día 32 de almacenamiento.

Las frutas en general poseen un rango de pH entre 3.9 a 4.5 según lo expuesto por Bhagwat y colaboradores (2004). Por lo tanto la solución de NatureSeal[®] y sorbato de potasio no afectó el pH de la mezcla de frutas. Este pH impide o retarda el crecimiento de ciertas bacterias, pero las levaduras y mohos son capaces de crecer en el rango de pH entre 2.2 a 5.0 (Beuchat, 2002). Mehyar y colaboradores (2011) establecen que la incorporación de sorbato de potasio a la solución de inmersión podría disminuir o inhibir el crecimiento de levaduras, mohos y algunas bacterias sin afectar las propiedades fisiológicas, valor nutricional o la apariencia de las frutas frescas.

Abadias y colaboradores (2012) determinaron el efecto que tiene la composición de gases y temperatura sobre el crecimiento de *E. coli* O157:H7 a diferentes pH en zanahoria, melón y

piña. Estos autores encontraron la incapacidad de crecimiento de *E. coli* O157: H7 a 5°C en contraste con melón donde las poblaciones de *E. coli* O157: H7 aumentaron considerablemente a 25°C. Esta eficacia del pH sobre la inhibición de los microorganismos se ve afectada por el tipo de ácido orgánico; siendo el orden de sensibilidad para *E. coli* O157: H7 a un pH dado: ácido acético > cítrico ácido > ácido málico (Alegre et al., 2010). Los principales ácidos en la piña y la manzana son cítrico y málico.

En esta investigación se utilizó una mezcla bastante heterogénea de frutas con pH variados. El pH del melón tiene un pH entre 6.1 y 6.8 y contiene grandes cantidades de azúcares que pueden ser utilizados por bacterias para su crecimiento. Por otro lado, la piña posee pH entre 3.28 a 4.6.

El pH también es afectado por las atmósferas modificadas. Altas concentraciones de CO₂ generan reducción del pH e interfieren con el metabolismo celular. Soliva-Fortuny y colaboradores (2004) evaluaron el crecimiento microbiano y cambios bioquímicos en manzanas recién cortadas bajo varias condiciones de atmósferas modificadas. Los investigadores encontraron que los valores de pH no cambiaron significativamente en la atmósfera de 0 kPa 100% N₂.

Las altas concentraciones de CO₂ en el interior del empaque contribuyeron a que el pH de las frutas mínimamente procesadas se mantuviera sin cambios significativos (p=0.4726) contrario con lo que generalmente suele observarse en atmósferas de alto CO₂ y bajo O₂, que alteran el pH del medio, acidificándolo (Aquino y bolanos et al., 2000). Watkins (2000) sugiere que reducciones del pH no se dan fácilmente en tejidos voluminosos; además que, dependiendo del tejido estos pueden tener una capacidad amortiguadora. Sin embargo, si las condiciones

desarrolladas dentro del empaque son anaerobias suele ocurrir un incremento de los valores de pH (Escalona et al.,2004).

Tabla 7. pH para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

Días	pH	
	T1	T2
0	3.92 ^{bc} ± 0.08	3.92 ^{bc} ± 0.08
4	3.96 ^{bc} ± 0.08	4.02 ^{abc} ± 0.08
8	3.90 ^c ± 0.08	4.10 ^{abc} ± 0.08
12	4.16 ^{ab} ± 0.08	4.20 ^a ± 0.08
16	3.95 ^{bc} ± 0.08	4.06 ^{abc} ± 0.08
20	3.94 ^{bc} ± 0.08	3.91 ^c ± 0.08
24	4.14 ^{abc} ± 0.08	3.98 ^{abc} ± 0.08
28	4.09 ^{abc} ± 0.08	4.13 ^{abc} ± 0.08
32	4.10 ^{abc} ± 0.08	4.10 ^{abc} ± 0.08

Medias con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes (p>0.05)

5.1.2.1 Color

Matiz (°hue) y saturación (chroma)

El atributo principal que el consumidor selecciona a la hora de obtener un producto es el color ya que lo utilizan como indicador de deterioro biológico y fisicoquímico del producto. La saturación (chroma) mostrado en la Figura 13 para melón cantaloupe denota que los valores del parámetro guardan la misma tendencia durante el tiempo de almacenamiento en ambos tratamientos, aunque aproximadamente el día 4 se obtuvieron valores mayores. Posteriormente se presentó una retención de la saturación sin mostrar diferencia entre los dos tratamientos. Los parámetros calculados se mantuvieron relativamente constantes a lo largo del tiempo de

almacenamiento evidenciando que el tratamiento 2 no afecto el tonó y saturación del melón bajo esas condiciones.

En un trabajo realizado por Amaro y colaboradores (2012) en melón cantaloupe y “honeydew” fresco almacenados bajo atmósferas modificadas por 14 días a 5°C, hue tomó valor de 75.8 representando el color amarillo y chroma 42.1. Estos valores coinciden con lo obtenido en esta investigación donde hue presentó un valor de 50.05 ± 0.89 y 40.70 ± 0.89 respectivamente y chroma para 35.39 ± 1.47 y 35.55 ± 1.47 . Se presentó un aumento de chroma entre el día 4-8 con una variación de pH entre 3.9 a 3.6 y 4.02 a 4.10, respectivamente para T1 y T2; debido a que los pigmentos como los carotenos no se degradan a pH extremos (Jiménez et al., 2004).

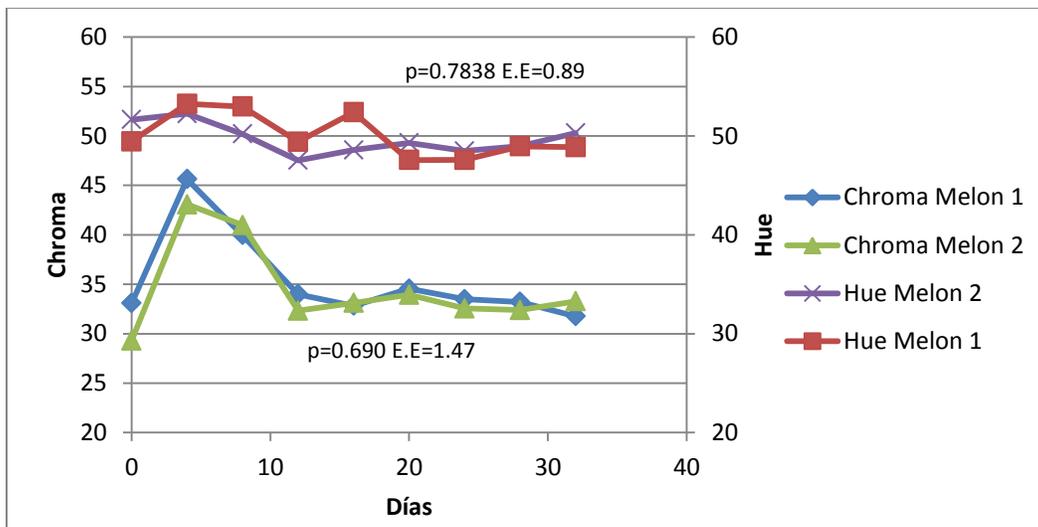


Figura 13. Lectura de los parámetros chroma y hue de melón en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

El tratamiento de NatureSeal® y sorbato de potasio sobre la mandarina mínimamente procesada no tuvo ningún efecto sobre los cambios en la calidad del fruto. Chroma y hue no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0.05$) entre todos los tratamientos.

En la Figura 14 se muestra que la saturación del color en mandarina al día 12 aumentó, pero luego se mantuvo constante desde el día 12 hasta el día 32 con un valor de 32.81 ± 1.91 y 32.52 ± 1.91 respectivamente. Hue entre 60-80 representan el color naranja – amarillo. Estos resultados muestran que los efectos del empaque, tratamiento y temperatura están asociados a la producción de pigmentos oscuros debido a la inhibición y degradación de la clorofila y la reducción de los carotenoides resultando un fruto amarillo por dentro en comparación con la fruta anaranjada en su cáscara (Magwaza et al., 2013).

Esta investigación concuerda con los resultados de Shi y colaboradores (2005) quienes compararon mandarina y pomelo en condiciones de estrés anaeróbico mediante la exposición a atmósferas de N_2 durante varios periodos de tiempo a $20^\circ C$. Estos investigadores encontraron un aumento en la respiración anaerobia, acumulación de sustancias volátiles de sabor desagradable, y degradación de color. Además, la exposición a N_2 durante 24h aumentó notablemente la producción endógena de etileno en las mandarinas en comparación con el pomelo que no presentó el mismo comportamiento. El zumo de los gajos de mandarinas contienen altas cantidades de piruvato descarboxilasa (PDC) y alcohol deshidrogenasa (ADH), enzimas claves que regulan la respiración anaerobia y la producción de acetaldehído y etanol, respectivamente (Shi et al., 2007).

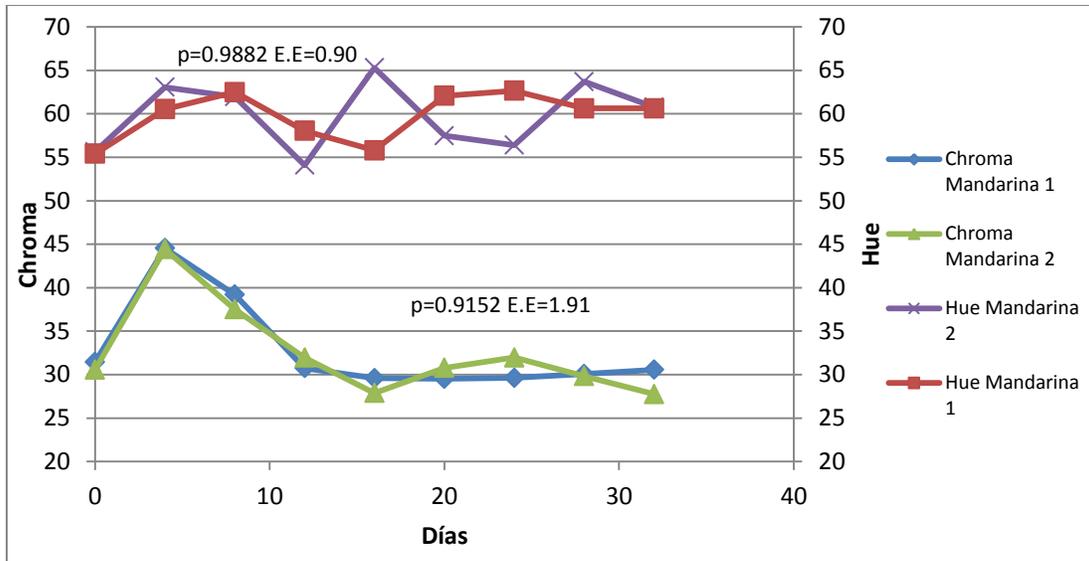


Figura 14. Lecturas de los parámetros chroma y hue de mandarina en almacenamiento, para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

La saturación del color para carambola disminuyó con el paso del tiempo de almacenamiento; mostrando para el tratamiento con NatureSeal® y sorbato de potasio una menor saturación (Figura 15). El ángulo hue se mantuvo para los dos tratamientos en su tonalidad de amarillo durante los 32 días de almacenamiento. Estos valores son muy dependientes de la madurez de la fruta al ser procesada. Los resultados indican que para los parámetro hue y chroma no hubo diferencia entre tratamiento ($p > 0.05$) lo que demuestra que el tratamiento no afectó el tono amarillo ni presentó pardeamiento en el fruto con el tiempo de almacenamiento.

Un estudio en rodajas de carambola en tres empaques bajo atmósferas modificadas mostró que las rebanadas mantuvieron su proceso de desverdecimiento (transformación por el que pasan de un color normalmente verde a un color amarillento o rojo), demostrando una reducción de ángulo hue desde el color verde ($h = 103.26$) a totalmente amarillo ($h = 91.21$) desde el cuarto día de almacenamiento en adelante (Teixeira et al., 2007).

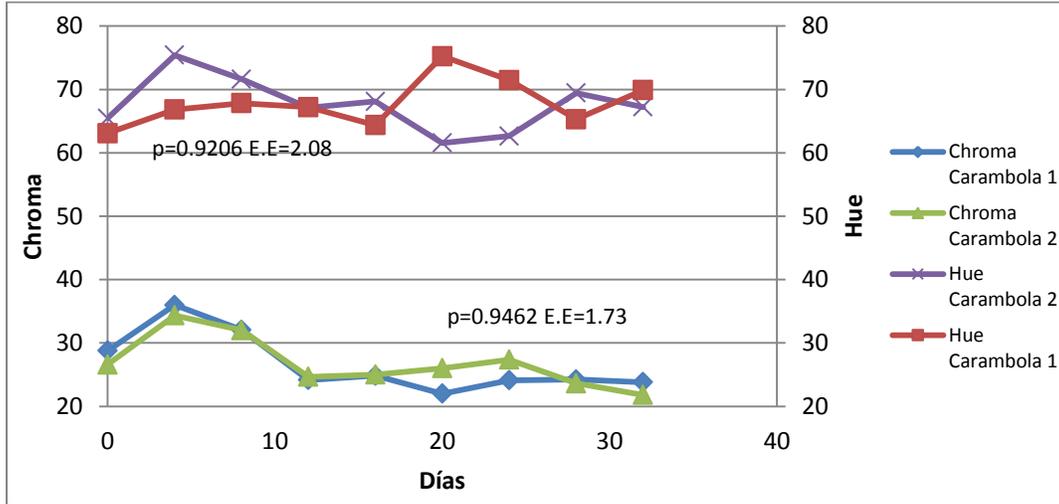


Figura 15. Lecturas de los parámetros chroma y hue de carambola en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

El chroma en mango después del día 10 presentó valores entre 39-40 permaneciendo constante durante el periodo de almacenamiento. El ángulo hue mostró valores entre 69-70 representando el color amarillo. Estos valores se encuentran entre los rangos mostrados en un estudio de empaques bajo atmósfera modificada de rebanadas de mango 'Tommy Atkins' tratados con ácido cítrico y recubierto con almidón de yuca, alginato de sodio y glicerol a lo largo de 15 días de almacenamiento a 5°C. Los valores mostrados estuvieron entre 63-78 para chroma y entre 74-78 para hue en los 15 días de almacenamiento (Chiumarelli et al., 2011).

Siddiq y colaboradores (2013) compararon el efecto ácido ascórbico, cítrico, cloruro de calcio, sulfato de sodio en cubos de mango fresco 'Tommy Atkins' tratados con infrarrojo (IR-5), durante 12 días a 4°C. El estudio encontró que ácido ascórbico, cítrico y calcio afectan positivamente el color de los mangos tratados; lo que concuerda con lo reportado en esta investigación donde se usó como solución de inmersión ácido ascórbico al 1M, NatureSeal® y

sorbato de potasio. Robles y colaboradores (2009) evaluaron varias soluciones de inmersión en ácido ascórbico, cítrico y cloruro de calcio en mango fresco “Kent” almacenados a 5°C, encontrando que los cubos de mango tratados mantienen los niveles más altos de tonalidad en comparación con el control el cual disminuyó significativamente durante el período de almacenamiento.

El tono del tratamiento con NatureSeal® y sorbato de potasio fue mayor mostrando diferencia entre tratamientos ($p=0.0399$) (Figura 16). La adición de sal de calcio pudo haber formado una barrera eficiente al oxígeno, trabajando como un agente anti - pardeamiento e inhibiendo la polifenol oxidasa por su interacción con el cobre en el sitio activo de la polifenol oxidasa (Rojas-Graü et al., 2008). Robles-Sánchez y colaboradores (2013) evaluaron los efectos de recubrimientos comestibles a base de alginato, ácido ascórbico y cítrico en mangos “Kent” recién cortados almacenados a 4°C y encontraron que la aplicación de los recubrimientos tiene un efecto positivo manteniendo valores de L superiores al control .

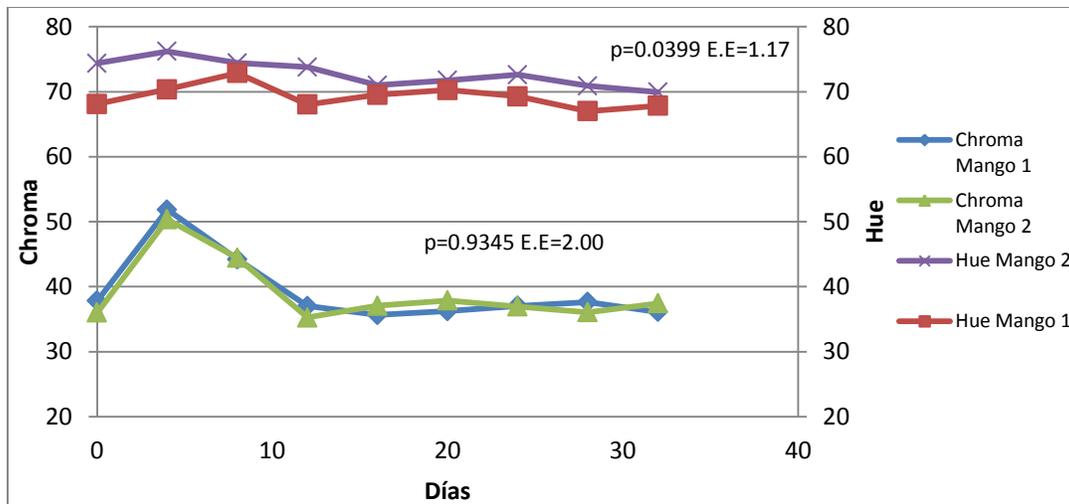


Figura 16. Lecturas de los parámetros chroma y hue de mango en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

La medición de L, a y b para uva fue determinada en la cáscara. Los tratamientos control y NatureSeal® con sorbato de potasio mostraron un cambio similar en su color rojo-violeta mostrando un °hue entre 25.88 – 24.91 durante el almacenamiento a 5°C. Los valores del parámetro chroma mostraron un aumento progresivo en los primeros días de almacenamiento y fueron mayores en el tratamiento control. La tonalidad tiene un efecto opuesto sobre el periodo de almacenamiento, ya que éste tiene una disminución notable después del día 4 donde se alcanzaron valores muy bajos (Figura 17).

Los recubrimientos frenan el proceso de oscurecimiento causado por las reacciones no enzimáticas y enzimáticas que degradan la clorofila a feofitina (Pastor et al., 2011). Estos resultados concuerdan con esta investigación donde se muestra una tonalidad menor en el tratamiento 1 y T2 dando como resultado pardeamiento de la fruta a los 32 días de almacenamiento.

El color de las uvas rojas y negras resulta de la formulación de los pigmentos correspondientes. La naranja al rojo pelargonidina, el rojo de cianidina magenta y violeta a azul delfinidina (Rustioni et al., 2013). Cada variedad de uva tiene un conjunto único de antocianinas. En un estudio donde se evaluaron las antocianinas y su capacidad antioxidante en respuesta a baja temperatura y altas concentraciones de CO₂ en uva de mesa se indica que las bayas maduras generalmente poseen tonos rojos o violetas de mayor o menor intensidad y la cantidad y naturaleza de sus antocianinas depende específicamente de la variedad, temperatura y el estado de madurez con el cual se procese (Romero et al., 2008).

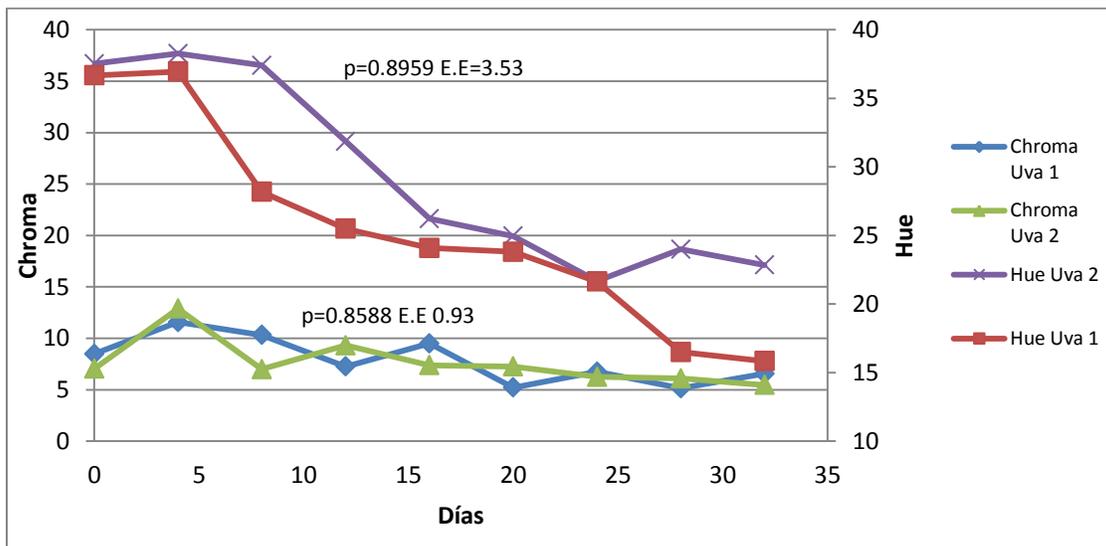


Figura 17. Lectura de los parámetros chroma y hue de uva en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

En la piña el °hue tuvo un comportamiento muy parecido para los dos tratamientos, mostrándose constante en la tonalidad amarilla para los 32 días (Figura 18). Chroma presentó valores similares demostrando que no existe diferencia entre tratamientos ($p > 0.05$).

Rocculi y colaboradores (2009) encontraron que la principal ventaja de modificación de la atmósfera era mejor retención del color en piña. La reducción de la concentración de O_2 a 8.11kPa o inferior mejora el aspecto final que se ve reflejado en chromas superiores. Investigaciones en piña recién cortada con y sin recubrimiento de ácidos durante 16 días de almacenamiento a 10°C indican que las formulaciones con revestimiento funcionan como agentes antipardeamiento (Azarakhsh et al., 2014). Estudios similares en rodajas de piña aplicando individualmente soluciones de ácidos mostraron que los compuestos antipardeamiento reducen los cambios de color durante el almacenamiento a 10°C (González-Aguilar et al., 2004). Lo anterior se correlaciona a los datos mostrados en este estudio donde el parámetro chroma presentó un aumento al inicio del almacenamiento y posteriormente se mantuvo constante. Esto debido a que la cobertura con NatureSeal® está compuesta por aminoácidos que preservan la textura, el sabor, la apariencia, nitidez y el color de las frutas recién cortadas a baja temperatura (Rupasinghe et al., 2005), de esta manera se presenta una menor actividad de la enzima polifenoloxidasas.

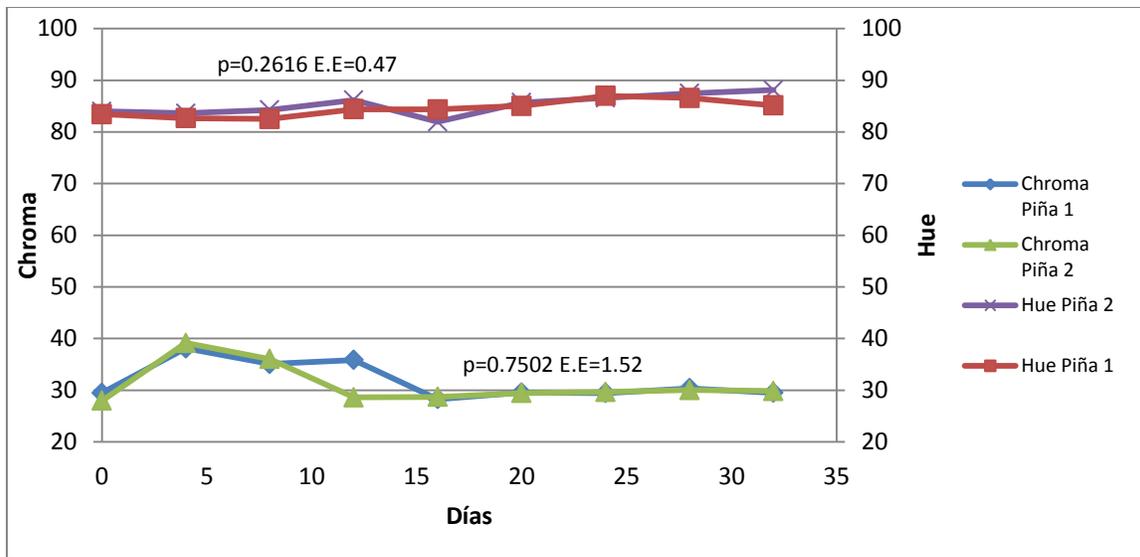


Figura 18. Lecturas de los parámetros chroma y hue de piña en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

Los parámetros de color chroma y °hue mostrados en la Figura 19 para naranja mínimamente procesada en la mezcla presentan un comportamiento constante para los tratamientos evaluados en esta investigación. Un estudio realizado a naranjas mínimamente procesada evaluando el impacto que tienen los compuestos bioactivos por 12 días de almacenamiento a 4°C mostró las características iniciales de color de las naranjas donde °hue fue 61.62 ± 2.20 y chroma 9.10 ± 0.75 respectivamente. Los valores de la tonalidad para ambos tratamientos concuerdan con lo mostrado en esta investigación aproximadamente un 77.29 ± 1.0 . Este valor indica un tono amarillo muy próximo a amarillo-verdoso (Plaza et al., 2011).

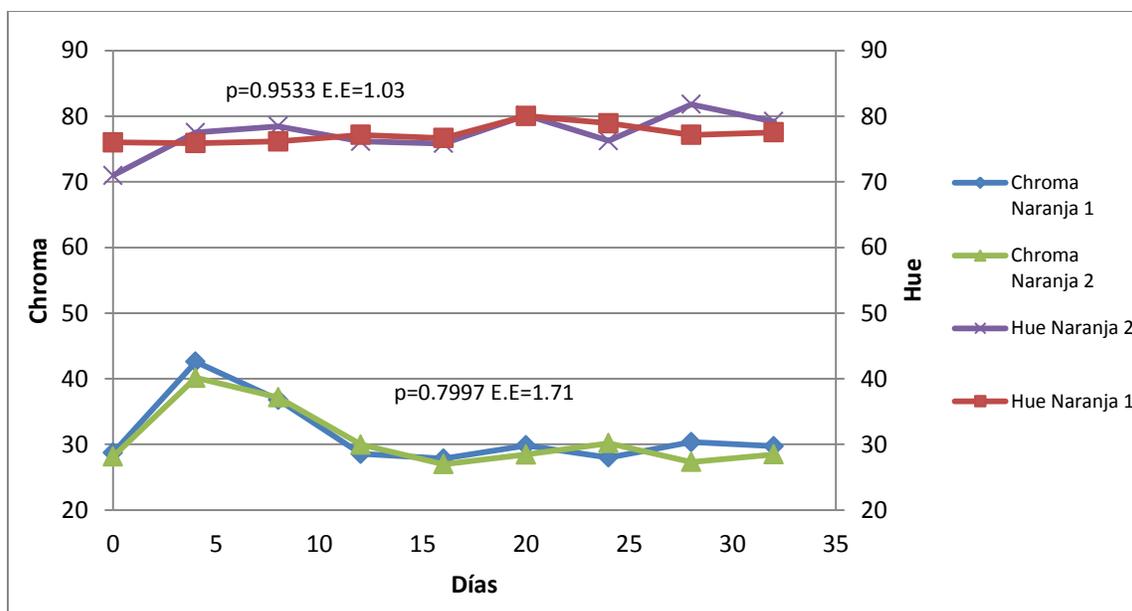


Figura 19. Lectura de los parámetros chroma y hue de naranja en almacenamiento para los dos tratamientos de mezcla de frutas mínimamente procesadas a 5°C.

5.1.3 Textura

La firmeza es definida como la fuerza requerida para deformar una muestra por una mordaza específica (Chen & Opara, 2013). Esta se ve influenciada por la adición de sales de calcio, principalmente lactato y cloruro de calcio. Este tipo de sales se han utilizado en productos frescos cortados de melón, manzana, durazno, mango, entre otros con resultados positivos en el mantenimiento de la firmeza y en la reducción de cambios de color. En esta investigación se utilizó NatureSeal®, este producto tiene como ingrediente activo ascorbato de calcio.

Los resultados para el perfil de textura (firmeza) de melón cantaloupe durante los días de almacenamiento para los dos tratamientos mostró que en promedio el tratamiento con

NatureSeal® y sorbato de potasio tuvo un efecto significativo sobre la fruta, ya que, presentó mayor firmeza hasta el día 32 (Tabla 8).

Estos resultados están dentro de los rangos encontrados en un estudio realizado a melón cantaloupe y honeydew fresco almacenados bajo atmósferas modificadas por 14 días a 5°C (Amaro et al., 2012). En este estudio se encontraron valores entre 29.4 N al día cero y 18.6 N al día 14 de almacenamiento. La composición de la atmósfera y la solución de inmersión en el presente estudio no afectó el ablandamiento de la fruta, manteniéndola aproximadamente igual al día cero.

Aguayo y colaboradores (2008) encontraron en melón fresco cortado, valores de firmeza de 15.5N lo que concuerda con la presente investigación donde se observan valores entre 12.23 ± 5.71 y 27.96 ± 5.71 N para tratamiento 1 y 2, respectivamente. Sin diferencias significativas entre tratamientos. Estudios en melón cantaloupe fresco sometido a tratamientos con calcio, demostraron un efecto positivo al aplicar lactato, ya que, se incrementa la difusión del calcio en el tejido y mejora la calidad (Cáez, 2011). Aguayo y colaboradores (2008) investigaron el efecto de la adición de diferentes soluciones de sales de calcio (carbonato, lactato y propionato) en melón ‘amarillo’ durante 8 días de almacenamiento a 5°C. Estos investigadores encontraron que el cloruro de calcio, lactato y propionato aumentaron los niveles de Ca en un 50% y mantuvieron la firmeza de los trozos de fruta. Sin embargo, el control y los tratamientos de Ca disminuyeron la firmeza en un 27% y 19%. Silveira y colaboradores (2011) demostraron que el ascorbato de calcio, cloruro y lactato pueden ser utilizados con éxito para la retención de calidad de melón fresco cortado ‘Galia’ hasta 10 días de almacenamiento a 5°C en atmósfera modificada de 4.5 kPa O₂ y 14.7 kPa CO₂.

Estudios similares donde se evalúa la efectividad de las atmósferas controladas en tres variedades de guayaba almacenada por 30 días a 8°C, demostraron que concentraciones bajas de O₂ (< 5kPa) retrasan la respiración, reduciendo la pérdida de peso y firmeza en comparación con altos niveles de CO₂ (>5kPa) que causan reducción en los niveles de ácido ascórbico de la fruta (Singh & Pal, 2008).

Tabla 8. . Firmeza en la mezcla de frutas mínimamente procesadas para melón cantaloupe y piña en los dos tratamientos almacenados a 5 °C

Días	Textura (N)			
	Melón		Piña	
	T1	T2	T1	T2
0	11.95 ^b ± 5.71	31.88 ^{ab} ± 5.71	12.70 ^{ab} ± 1.62	12.41 ^{ab} ± 1.62
4	12.68 ^{ab} ± 5.71	17.56 ^{ab} ± 5.71	12.44 ^{ab} ± 1.62	15.43 ^{ab} ± 1.62
8	12.68 ^{ab} ± 5.71	10.02 ^b ± 5.71	10.67 ^b ± 1.62	12.91 ^{ab} ± 1.62
12	12.40 ^b ± 5.71	13.98 ^{ab} ± 5.71	19.38 ^a ± 1.62	14.10 ^{ab} ± 1.62
16	13.49 ^{ab} ± 5.71	15.06 ^{ab} ± 5.71	13.22 ^{ab} ± 1.62	15.03 ^{ab} ± 1.62
20	14.29 ^{ab} ± 5.71	14.31 ^{ab} ± 5.71	10.60 ^b ± 1.62	11.01 ^{ab} ± 1.62
24	13.09 ^{ab} ± 5.71	18.02 ^{ab} ± 5.71	11.38 ^{ab} ± 1.62	13.19 ^{ab} ± 1.62
28	11.74 ^b ± 5.71	20.63 ^{ab} ± 5.71	10.72 ^b ± 1.62	11.52 ^{ab} ± 1.62
32	12.23 ^a ± 5.71	27.96 ^b ± 5.71	8.89 ^b ± 1.62	10.06 ^b ± 1.62

Medias con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes (p>0.05)

Los cambios morfométricos, la turgencia celular e integridad de la pared celular, son el principal factor relacionado con propiedades de textura. A mayor área celular hay una disminución de la firmeza. Esto indica que los tejidos de frutas compuestos por células pequeñas, como por ejemplo manzana y pera tienen mayor resistencia a la fuerza de compresión y mayor

módulo de elasticidad que los tejidos con células grandes como, por ejemplo, el melón y la piña (Casas y Cáez, 2011).

Las lecturas de firmeza en piña se muestran en la Tabla 8. La firmeza disminuye con los días de almacenamiento; presentando al día 12 un rango mayor de firmeza del tejido para el tratamiento 1 (control) en comparación con los demás días de almacenamiento. Al día 32 se presentó una disminución de firmeza con 10.06 ± 1.62 N para el tratamiento 2. No se encontró diferencia entre tratamientos ($p=0.770$).

Los resultados obtenidos en el presente estudio para el tratamiento con NatureSeal® y sorbato de potasio, que presentó la mayor firmeza, están de acuerdo con lo expuesto por Azarakhsh y colaboradores (2014). Estos investigadores estudiaron los efectos de revestimientos de una solución de alginato con aceite esencial de limón y otra de cloruro de calcio para extender la vida útil de piña. Informaron que el cloruro de calcio fue eficaz en el mantenimiento de la firmeza.

Se ha reportado en piña empacada bajo atmósferas modificada de nitrógeno que la firmeza es aumentada y el ablandamiento se ve limitado (Rocculi et al., 2009). Esto podría ser una consecuencia de la menor actividad de las enzimas pectinesterasa, pologalacturonasa y beta-galactosidasa, responsables del ablandamiento del tejido determinado por el alto nivel de N_2 en el espacio libre del empaque. Además, se ha informado que altos niveles de CO_2 pueden estimular la senescencia causando lesiones fisiológicas (Marrero & Kader, 2006).

5.1.4 Composición de gases en el espacio libre de la bandeja

La producción de CO₂ y consumo de O₂ durante el tiempo de almacenamiento en el estudio resulta de la respiración de los tejidos vivos de las frutas. Unido a esto las frutas son un medio rico en azúcares donde se degrada la glucosa para la formación de ácido láctico liberando CO₂ en ausencia de oxígeno y causando acidificación del medio.

El análisis descriptivo presentado en la Figura 20 muestra cambios en el espacio libre de la bandeja durante el tiempo de almacenamiento. No se observó diferencias ($p > 0.05$) entre los mismos (ver Apéndice 9.1.6). En el tratamiento 1 se pudo observar que los niveles de oxígeno fueron decayendo hasta alcanzar condiciones de riesgo anaeróbico con menor producción de CO₂ y menor consumo de O₂ durante el almacenamiento en comparación con el tratamiento con Natureseal y sorbato de potasio que presentó una mayor liberación de CO₂ y menor O₂. El aumento inicial de un 20% de CO₂ reportado, disminuye la vida útil de las frutas frescas (Marrero y Kader, 2006). Es debido a que el tanque de nitrógeno estaba compuesto de una mezcla de CO₂ y N₂, al realizar la medición inicial de las concentraciones de gases presente en la atmósfera de empacado se utilizó un tanque diferente al de la investigación, evidenciando variaciones entre mediciones.

En este estudio no se evaluó la presencia de bacterias ácido lácticas ya que uno de los tratamientos utilizados en solución de inmersión contenía sorbato de potasio el cual es eficaz contra mohos y levaduras y en especial, contra microorganismos catalasa positivos como lo son las bacterias ácido lácticas (James et al., 2005).

Entre las posibles causas que pudieron provocar la alteración de las frutas mínimamente procesadas podría citarse el efecto de las atmósferas hipoxias. De acuerdo con Shi y colaboradores (2007), aumentos en las concentraciones de CO₂ observados en frutas y vegetales condujeron a un estrés anaerobio impuesto por la alta exposición a N₂. Esto se debe a que cambia el metabolismo aeróbico del sistema formando productos típicos de un metabolismo fermentativo. Es decir, cuando la concentración de O₂ es muy baja en comparación con el punto del metabolismo anaeróbico se induce la acumulación de acetaldehído y etanol que puede conducir al desarrollo de malos sabores (Pesis, 2005).

También es posible que se genere condensación de agua como producto de la elevada transpiración produciendo CO₂ y vapor de agua que favorece las condiciones para el desarrollo de microorganismos (debido al contenido de agua libre) además de dificultar la difusión de gases a través de los tejidos (Portela, 2001).

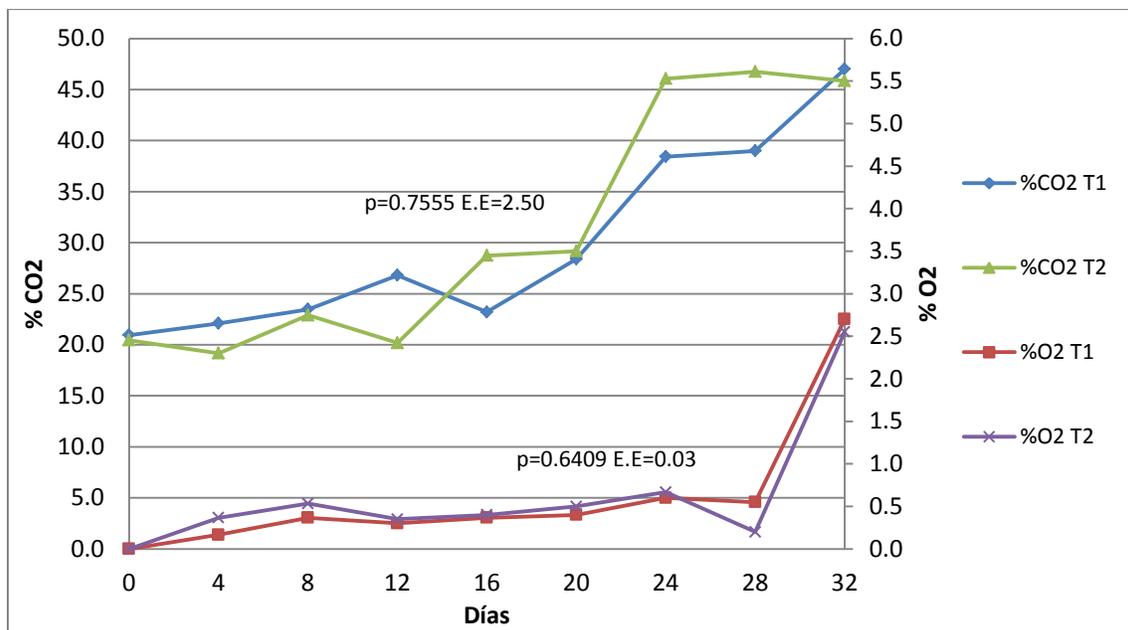


Figura 20. Cambios de O₂ y CO₂ en el espacio libre de la bandejas con mezcla de frutas mínimamente procesadas durante 32 días de almacenamiento a 5°C.

5.1.5 Pérdida de peso

Como se puede observar en la Figura 21, la pérdida de peso de las frutas empacadas con el NatureSeal® y sorbato de potasio aumentó continuamente a lo largo del tiempo de almacenamiento; independientemente de la composición del gas presente en la bandeja. Esto es probable debido a la alta evaporación de humedad en las bandejas durante la formación del vacío inicial que se aplica antes de la inyección del nitrógeno en el empaque (Costa et al., 2011).

La pérdida de peso de todas las muestras aumentó durante el tiempo de almacenamiento, debido a la pérdida de humedad de los revestimientos y el proceso de maduración de la fruta. En el estudio se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.0001$) con una pérdida de peso $19.09 \pm 1.18\%$ para el tratamiento 2 y $11.66 \pm 1.18\%$ para el tratamiento 1. Esto refleja que la solución de NatureSeal® y sorbato de potasio no fue eficaz en la retención de la humedad de las frutas mínimamente procesadas. La pérdida de humedad puede inducir la anaerobiosis en la fruta lo que podría aumentar la fermentación de compuestos que resultan en el deterioro del sabor. Chiumarelli y colaboradores (2011) observaron que el uso de ácido cítrico aumenta la pérdida de peso en 11% después de 15 días de almacenamiento en comparación con la muestra control que fue de aproximadamente 9%.

La pérdida de humedad fue el principal factor de deterioro visual en naranja, piña y mango. Estudios indican que empaques de polietileno en rebanadas de carambola mostraron pérdidas de peso debido a la permeabilidad al vapor de agua ocasionando marchitamiento al octavo día de almacenamiento lo que llevó al crecimiento microbiano (Teixeira et al., 2007).

Rojas-Argudo y colaboradores (2009) estudiaron el efecto de tres revestimientos compuestos de lípidos en la calidad postcosecha de mandarinas. Los autores evaluaron la pérdida de peso y como resultado se observó que los revestimientos después de 5 semanas de almacenamiento no fueron efectivos en la reducción de la pérdida de peso.

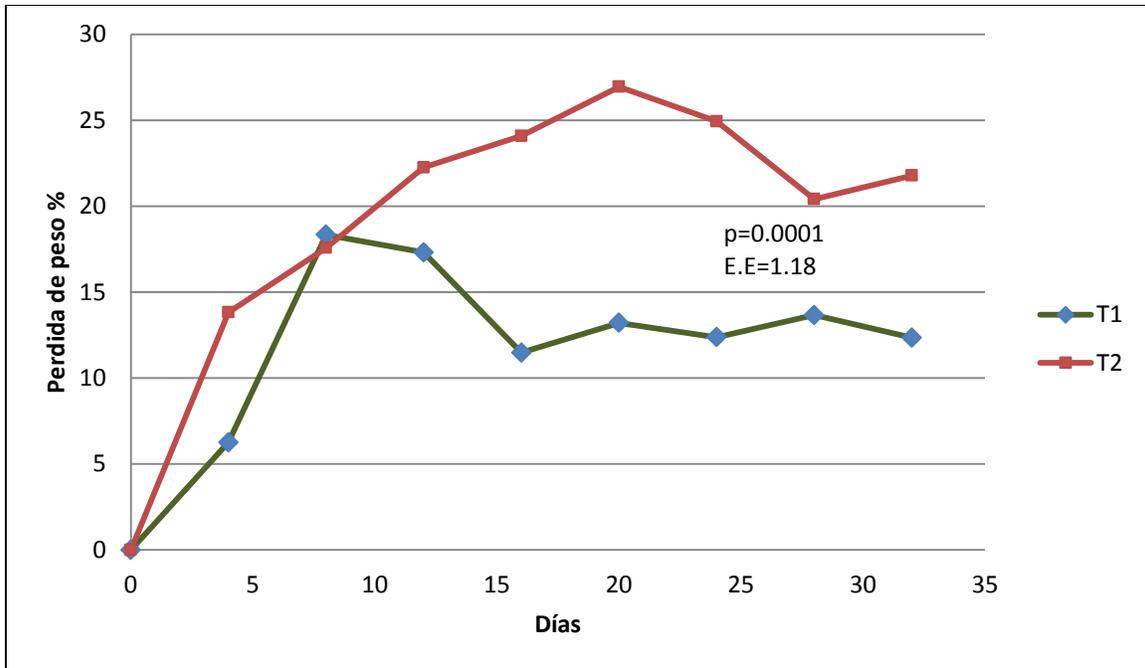


Figura 21. Efecto de la adición de Natureseal y sorbato de potasio y control sobre la pérdida de peso en frutas mínimamente procesadas bajo atmosfera modificada almacenadas a 5°C.

5.2 Análisis microbiológico

5.2.2 Recuento de aerobios totales

La Tabla 9 muestra las medias del análisis estadístico del recuento de aerobios totales (Log UFC/g). Al día cero los recuentos iniciales fueron 2.93 y 2.74 log UFC/g para los tratamientos 1 y 2, respectivamente. Pasado este periodo la sobrevivencia de los microorganismos aerobios aumentó proporcionalmente con el tiempo hasta el día 16 para los dos tratamientos. Luego disminuye aproximadamente un ciclo logarítmico hasta alcanzar el final del periodo de almacenamiento (día 32) recuentos de 4.89 log UFC/g y 4.31 Log UFC/g para el tratamiento 1 y 2, respectivamente. Mostrando que no hay diferencias entre tratamientos ($p>0.05$)

El comportamiento de aumento en recuentos de microorganismos a partir del día 12 de almacenamiento, seguido de una disminución de población microbiana se encuentra en concordancia con lo reportado por Mehyar y colaboradores (2011). En este estudio realizado con manzanas, pepinos y tomates almacenados a 4°C, se observó un aumento en la población microbiana al día 10 de almacenamiento, después de lo cual inicio una inhibición efectiva.

Tabla 9. Medias de recuento de aerobios totales

Día	Aerobios Totales Log UFC/g	
	T1	T2
0	2.93 ^b ± 0.93	2.74 ^b ± 0.93
4	3.87 ^{ab} ± 0.93	3.00 ^b ± 0.93
8	4.32 ^{ab} ± 0.93	4.80 ^{ab} ± 0.93
12	4.18 ^{ab} ± 0.93	4.92 ^{ab} ± 0.93
16	5.71 ^a ± 0.93	5.28 ^{ab} ± 0.93
20	4.18 ^{ab} ± 0.93	5.25 ^{ab} ± 0.93
24	4.83 ^{ab} ± 0.93	4.81 ^{ab} ± 0.93
28	4.84 ^{ab} ± 0.93	4.40 ^{ab} ± 0.93
32	4.89 ^{ab} ± 0.93	4.31 ^{ab} ± 0.93

Medias con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Se considera que los límites de recuento de aerobios totales para vegetales congelados oscilan entre 1.0×10^3 hasta 1.0×10^6 UFC/g (Silva et al., 2013) y el recuento total de aerobios, psicotróficos para frutas frescas se encuentra en un rango de 10^5 y una tolerancia hasta 10^6 UFC/g (Ragaert Peter, 2003). En esta investigación se observó que al día 32 los tratamientos 1 y 2 dieron como resultado cargas menores al límite máximo reportado en frutas y vegetales frescos reportado por estos autores. Las condiciones de bajo pH presentes en la mezcla de frutas mínimamente procesadas y almacenadas a 5°C dio como resultado tratamientos eficaces en el control del crecimiento microbiano. Después de 32 días de almacenamiento en la solución de inmersión con NatureSeal® y sorbato de potasio se observó que disminuyó en comparación al control sin afectar el recuento de microorganismos. Alegre y colaboradores (2013) no

encontraron efecto sobre la población microbiana en un estudio con trozos de manzana tratados con NatureSeal® AS1 al 6%.

Al día 32 de almacenamiento se observó deterioro físico visible manifestado por la alta actividad de agua en la mezcla de frutas mínimamente procesadas a causa de la madurez y senescencia del tejido.

El recuento de aerobios totales de esta investigación para el tratamiento 2 NatureSeal® y sorbato de potasio pudo deberse a que las soluciones de calcio presente en el NatureSeal® tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano. Esto se ve relacionado con la estabilidad de la pared celular de Ca iónico y la cadena de poligalacturonasa, lo cual da rigidez a la pared celular generando resistencia a las enzimas fúngicas y disminuyendo ablandamiento y degradación de la pared celular (Silveira et al., 2011).

Soliva-Fortuny y colaboradores (2004) en su estudio a manzanas “Golden Delicious” recién cortadas almacenadas bajo atmósfera modificada con 100% de N₂ durante 1 mes de almacenamiento en refrigeración sugieren que esta atmósfera modificada tuvo un efecto fungistático, pero no disminuyó el conteo de bacterias aeróbicas. Las altas concentraciones de CO₂ tuvieron efecto bacteriostático contra microorganismos alterantes que puede crecer a temperaturas de refrigeración.

5.2.3 Recuento de hongos y levaduras

La Tabla 10 muestra los promedios del recuento de hongos y levaduras. La mezcla de frutas mínimamente procesadas mostró un crecimiento inicial de mohos y levaduras al día cero

de 1.96 Log UFC/g y 2.01 Log UFC/g para el tratamiento 1 y 2, respectivamente. El mayor riesgo de contaminación en frutas frescas lo constituyen los mohos y levaduras que son capaces de desarrollarse en condiciones de baja acidez (Bhagwat et al., 2004). Las características fisicoquímicas del producto lo hacen más susceptible al deterioro por hongos, no obstante el sorbato de potasio tiene la finalidad de limitar este crecimiento.

Los recuentos de mohos y levaduras en el producto aumentaron de cuatro a seis ciclos logarítmicos para los dos tratamientos a los 32 días de almacenamiento. Los límites permisibles de recuento de levaduras para frutas frescas están en un rango de 10^3 con una tolerancia de hasta 10^4 . Para mohos se encuentra en un rango de 10^2 con una tolerancia de 10^3 UFC/g (Ragaert Peter, 2003). Los valores de recuento de mohos y levaduras al día 28 se encontraron dentro de los límites reportados por el autor.

Tabla 10. Medias de recuento de hongos y levaduras

Día	Mohos y Levaduras Log UFC/g	
	T1	T2
0	1.96 ^d ± 0.45	2.01 ^d ± 0.45
4	2.39 ^d ± 0.45	2.92 ^{bcd} ± 0.45
8	2.93 ^{bcd} ± 0.45	2.83 ^{cd} ± 0.45
12	2.86 ^{bcd} ± 0.45	2.40 ^d ± 0.45
16	3.85 ^{bcd} ± 0.45	2.88 ^{bcd} ± 0.45
20	3.85 ^{bcd} ± 0.45	3.38 ^{bcd} ± 0.45
24	3.57 ^{abc} ± 0.45	3.59 ^{bcd} ± 0.45
28	4.98 ^{abcd} ± 0.45	4.37 ^{abcd} ± 0.45
32	4.27 ^{ab} ± 0.45	6.72 ^a ± 0.45

Medias con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Estudios han demostrado que concentraciones mayores de sorbato de potasio (0.1%) proporcionan una mayor inhibición de *Penicillium spp.* y concentraciones entre 0.15 % y 1.5 % reducen el crecimiento de *P. expansum* entre un 50% al 83% en manzanas, tomates y pepinos (Mehyar et al., 2011). El modo de acción de sorbato es la alteración de la estructura morfológica de la célula mediante un cambio genético, lo que causa alteración de la membrana y ocasiona inhibición de los procesos de transporte celular. Además, reduce el gradiente electroquímico de la membrana citoplasmática de la célula vegetativa inhibiendo el transporte de aminoácidos (Smilanick et al., 2008). Sin embargo, la adición de sorbato de potasio depende de la concentración, pH, actividad de agua, temperatura de almacenamiento y presencia de otros aditivos como la adición de soluciones acuosas (ejemplo: ácidos orgánicos y sales) presentando una eficacia limitada; lo que ocasiona inestabilidad y degradación por oxidación (Mehyar et al., 2011). En este estudio el tratamiento 2 (NatureSeal® y sorbato de potasio) mostró un recuento de mohos y levaduras menor que el tratamiento 1 lo que demostró la eficacia de la solución en inmersión.

5.2.4 Recuento de coliformes y *E. coli*

Esta investigación no encontró presencia de coliformes en ninguno de los lotes y días de almacenamiento como tampoco presencia de *E. coli* en la mezcla de frutas mínimamente procesadas. Los resultados obtenidos demuestran las buenas condiciones sanitarias del

procesamiento ya que *E. coli* es un indicador de contaminación fecal. La materia prima fue sumergida en solución de cloro para ser higienizada. Ihl y colaboradores (2003) evaluaron lechuga inoculada con *Escherichia coli* donde se probó la eficacia de la solución de inmersión con cloro y se encontró una reducción significativa del microorganismo. Con este proceso de lavado y descontaminación de la fruta fresca cortada se reducen los recuentos microbianos. Sin embargo, existen microorganismos que pueden crecer durante la comercialización en fresco especialmente los psicotróficos o cuando productos envasados no se almacenan a la temperaturas adecuadas entre 1 y 5°C (Abadias et al., 2008).

La adición de las soluciones de inmersión donde es utilizado sorbato de potasio o ácido sórbico puede inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *S. typhimurium* y *Escherichia coli* O157:H7 acidificando el medio a pH 5.2 (Pérez et al., 2014).

6. CONCLUSIONES

En este estudio se evaluó el efecto del NatureSeal® y sorbato de potasio bajo condiciones de atmósfera modificada de nitrógeno en los atributos de calidad y vida útil de la mezcla de frutas mínimamente procesadas. Los parámetros de pH, color y textura no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Esto demuestra que la solución de NatureSeal® y sorbato de potasio no afectó los parámetros antes mencionados en la mezcla de frutas.

La adición de sal de calcio promovió una eficiente barrera al oxígeno, trabajando como un agente anti - pardeamiento e inhibiendo la polifenol oxidasa. Se observaron efectos positivos en la prevención del pardeamiento de la fruta.

El tratamiento de la solución de inmersión con Naturaseal® y sorbato de potasio aplicado bajo atmósfera modificada fortaleció el tejido de las frutas frescas en comparación con el control. El tratamiento con Natureseal® 0.5% y sorbato de potasio 0.05% (p/v) ajustado a pH 6.5 con ácido ascórbico 1M por 1 minuto de inmersión a una temperatura de 5°C bajo atmósferas modificadas de nitrógeno almacenado por 28 días mantuvo las características de morfología celular y la firmeza del tejido fresco.

La evaluación del largo de vida útil presentó una carga microbiana hasta el día 28 de almacenamiento de 4.40 Log UFC/g para aerobios totales y 4.37 Log UFC/g para hongos y levaduras en el tratamiento en solución de NatureSeal® y sorbato de potasio y el tratamiento

control presentó 4.84 Log UFC/g para aerobios totales y 4.98 Log UFC/g para hongos y levaduras. Como resultado se observó un menor conteo de microorganismos respecto al control a lo largo del tiempo de almacenamiento. Además, durante el tiempo de almacenamiento no se observaron coliformes ni *E. coli*.

El empaque en atmósfera de nitrógeno genero que la concentración de CO₂ y O₂ aumentara ocasionando la respiración de la fruta y posible ablandamiento de la misma.

Bajo las condiciones de este estudio es posible determinar que la mezcla de frutas mínimamente procesadas tienen un largo de vida útil de 28 días bajo condiciones de refrigeración a 5°C en el empaque con atmósfera de nitrógeno, NatureSeal® y sorbato de potasio.

7. RECOMENDACIONES

Evaluar otras concentraciones de sorbato de potasio u otro aditivo que aumente el largo de vida útil del producto, de esta manera se asegura la inhibición microbiana en el producto.

Evaluar otra atmósfera modificada donde se presenten diferentes porcentajes de CO₂ y O₂ dentro del empaque, ya que de acuerdo a estudios bajas concentraciones de O₂ (< 5kPa) pueden generar atmósferas anaerobias generando malos sabores y olores que deterioran el producto.

Evaluar la utilización de sustancias barrera como alginato, quitosano u otros para disminuir el ablandamiento de los frutos, pérdida de peso y lixiviado en las bandejas. Estas sustancias se han estudiado ampliamente en diferentes soluciones de inmersión en frutas, beneficiando el tejido y mejorando la apariencia organoléptica de las frutas mínimamente procesadas.

Evaluar otras variedades de frutas para la realización de la mezcla, teniendo en cuenta su estado de madurez y la forma del tejido; lo que ayuda a generar pérdida de nutrientes y aumento en la población microbiana.

Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 en la mezcla de frutas durante el almacenamiento, ya que actualmente se reportan muchos brotes a causa de estos patógenos en frutas y vegetales frescos.

Evaluar bacterias ácido lácticas presentes en la atmósfera modificada. Estas bacterias generan respiración anaeróbica y fermentación del tejido. La actual atmósfera contiene bajas concentraciones de O₂ por lo que se podría generar crecimiento de las mismas.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abadias, M., Alegre, I., Oliveira, M., Altisent, R., & Viñas, I. (2012). Growth potential of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut fruits (melon and pineapple) and vegetables (carrot and escarole) stored under different conditions. *Food Control*, 27(1), 37–44.
- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., & Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International journal of food microbiology*, 123(1-2), 121–9.
- Aguayo, E., Escalona, V. H., & Artés, F. (2008). Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut “Amarillo” melon. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 397–406.
- Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., & Woolf, A. (2010). Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. *Postharvest Biology and Technology*, 57(1), 52–60.
- Alegre, I. (2012). Capacidad de crecimiento de patógenos alimentaria en manzana y melocotón mínimamente procesados y nuevas estrategias de intervencion para mejorar su seguridad microbiológica. Universidad de Lleida, Lleida, pp 300.
- Alegre, I., Abadias, M., Anguera, M., Usall, J., & Viñas, I. (2010). Fate of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria innocua* on minimally-processed peaches under different storage conditions. *Food Microbiology*, 27(7), 862–868.
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Altisent, R., & Abadias, M. (2013). Antagonistic effect of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against foodborne pathogens in fresh-cut apples under simulated commercial conditions. *Food Microbiology*, 33(2), 139–148.
- Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., & Gil, M. I. (2008). Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 155–163.
- Alzamora, S., Tapia, M. S., & Lopez-Malo, A. (2000). *Minimally Processed Fruits and Vegetables*. Springer, pp 382.

- Amaro, A. L., Beaulieu, J. C., Grimm, C. C., Stein, R. E., & Almeida, D. P. F. (2012). Effect of oxygen on aroma volatiles and quality of fresh-cut cantaloupe and honeydew melons. *Food Chemistry*, *130*(1), 49–57.
- AOAC. (2002a). AOAC Official Method 991.14 coliform and *Escherichia coli* count in foods. Revisado: Febrero 15, 2014. Disponible en: <http://www.longrunbio.com/uploads/soft/130814/1-130Q4144244.pdf>
- AOAC. (2002b). AOAC Official Method 997.02 Yeast and mold count in foods. Revisado: Febrero 15, 2014, Disponible en <http://www.meat-food.com/allfile/criterion/%E6%A3%80%E6%B5%8B%E6%A0%87%E5%87%86/AOAC%2017.2.09.pdf>
- Aquino-bolanos, E. n., Cantwell, M. i., Peiser, G., & Mercado-silva, E. (2000). Changes in the Quality of Fresh-cut Jicama in Relation to Storage Temperatures and Controlled Atmospheres. *Journal of Food Science*, *65*(7), 1238–1243.
- Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H. M., Tan, C. P., & Mohd Adzahan, N. (2014). Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, *88*, 1–7.
- Bartholomew, D. P., Paull, R. E., & Rohrbach, K. G. (2003). *The Pineapple: Botany, Production and Uses*. CABI, pp 336.
- Bastos, M. D. S. R., de Fátima Ferreira Soares, N., José de Andrade, N., Cristina Arruda, A., & Elesbão Alves, R. (2005). The effect of the association of sanitizers and surfactant in the microbiota of the Cantaloupe (*Cucumis melo* L.) melon surface. *Food Control*, *16*(4), 369–373.
- Beaulieu, J. C., & Gorny, J. R. (1999). *Fresh-cut Fruits* (p. 17). New Orleans: USDA, ARS. Revisado: Octubre 21,2013, Disponible en:<http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/146freshcutfruits.pdf>
- Beuchat, L. R. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, *4*(4), 413–423.

- Bhagwat, A. A., Saftner, R. A., & Abbott, J. A. (2004). Evaluation of wash treatments for survival of foodborne pathogens and maintenance of quality characteristics of fresh-cut apple slices. *Food Microbiology*, *21*(3), 319–326.
- Bicas, J. L., Molina, G., Dionísio, A. P., Barros, F. F. C., Wagner, R., Maróstica, M. R., & Pastore, G. M. (2011). Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Research International*, *44*(7), 1843–1855.
- Bird, L. (2013). Editorial. *Journal of Business Continuity & Emergency Planning*, *6*(4), 288–94.
- Brackett, R. E. (1999). Incidence , contributing factors , and control of bacterial pathogens in produce, *15*, 305–311.
- Cáez, N. C., G. (2011). *Efecto de la aplicación de calcio bajo tratamiento térmico suave sobre la estabilidad del tejido de melón cantaloupe (Cucumis Melo L) fresco precortado*. Revista ReCiTeIA.
- Casas-Forero, N., & Cáez-Rámirez, G. (2011). Cambios morfométricos y de calidad por aplicación de tres fuentes de calcio bajo tratamiento térmico suave en melón (Cucumis melo L.) fresco precortado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *10*(3), 431–444.
- Chen, L., & Opara, U. L. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods — A review. *Food Research International*, *51*(2), 823–835.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., & Hubinger, M. D. (2011). Fresh cut “Tommy Atkins” mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (Manihot esculenta Crantz) starch or sodium alginate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *12*(3), 381–387.
- Costa, C., Lucera, A., Conte, A., Mastromatteo, M., Speranza, B., Antonacci, A., & Del Nobile, M. A. (2011). Effects of passive and active modified atmosphere packaging conditions on ready-to-eat table grape. *Journal of Food Engineering*, *102*(2), 115–121.
- Davidson, P., Juneja, V., & Branen, J. (2001). Antimicrobial Agents. In J. H. Thorngate Iii, S. Salminen, L. Branen, & M. Davidson (Eds.), *Food Additives* (Vol. 116). CRC Press.
- Revisado: Noviembre 09,2013, Disponible en:
<http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9780824741709.ch20>

- Departamento de Agricultura de Puerto Rico. (2009). *Ingreso Bruto de la Agricultura de Puerto Rico* (p. 5). Revisado: Noviembre 09,2013, Disponible en <http://www2.pr.gov/agencias/Agricultura/estad%C3%ADsticas/Documents/Estad%C3%ADsticas/Ingreso%20Bruto%20Agricola%202009-2010.pdf>
- Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–16.
- Dugo, G., & Giacomo, A. D. (2003). *Citrus: The Genus Citrus*. Taylor & Francis, pp 657.
- Ekpe Onot, Umoh IB, & OU Eka. (2007). EFFECT OF A TYPICAL RURAL PROCESSING METHOD ON THE PROXIMATE COMPOSITION AND AMINO ACID PROFILE OF BUSH MANGO SEEDS (*Irvingia gabonensis*). *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 7, 12.
- Elss, S., Preston, C., Hertzog, C., Heckel, F., Richling, E., & Schreier, P. (2005). Aroma profiles of pineapple fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and pineapple products. *LWT - Food Science and Technology*, 38(3), 263–274.
- Escalona Contreras, V. H., Aguayo Giménez, E., & Artés Calero, F. (2004). Envasado en atmósfera modificada de pimiento de carne gruesa. Retrieved from <http://repositorio.bib.upct.es:8080/dspace/handle/10317/307>
- FAO. (2003). *Combined Preservation Technologies for Fruits and Vegetables: Training Manual*. Roma. Revisado: Noviembre 09,2013, Disponible en: http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ac303e/ac303e04.html
- FAO. (2013). FAOSTAT. Revisado Octubre 29, 2013, Disponible:<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- FDA. (2012). GRAS Notification-ChitoClear Shrimp-derived Chitosan. Revisado: Febrero 28, 2014, Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/GRN000443.pdf
- FDA, C. for F. S. and A. (2006). Food Additives & Ingredients - Food Additive Status List. WebContent. Revisado:Noviembre 11, 2013, Disponible en <http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm091048.htm>

- Fernandes, F., Ramalhosa, E., Pires, P., Verdial, J., Valentão, P., Andrade, Pereira, J. A. (2013). *Vitis vinifera* leaves towards bioactivity. *Industrial Crops and Products*, 43, 434–440.
- Finstad, S., O'Bryan, C. A., Marcy, J. A., Crandall, P. G., & Ricke, S. C. (2012). Salmonella and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. *Food Research International*, 45(2), 789–794. doi:10.1016/j.foodres.2011.03.057
- Food and Drug Administration. Services. (2001). Laboratory Methods - BAM: Aerobic Plate Count. WebContent. Revisado: Noviembre 19, 2013, Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>
- FOSHU. (2013). Approved FOSHU Products. Revisado: Febrero 28, 2014, Disponible en: <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html>
- Garrett, E. H. (1997). Fresh-cut produce. In B. A. Blakistone (Ed.), *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods* (pp. 125–134). Springer US. Revisado en: Octubre 21, 2013, Disponible en: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-6097-5_6
- Gómez, P. a., & Artés, F. (2005). Improved keeping quality of minimally fresh processed celery sticks by modified atmosphere packaging. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 323–329.
- González-Aguilar, G. A., Ruiz-Cruz, S., Cruz-Valenzuela, R., Rodríguez-Félix, A., & Wang, C. Y. (2004). Physiological and quality changes of fresh-cut pineapple treated with antibrowning agents. *LWT - Food Science and Technology*, 37(3), 369–376.
- Gormley, T. R., Butler, F., & Science, F. (2009). Efficacy of Natureseal ® AS1 browning inhibitor in fresh-cut fruit salads applications, with emphasis on apple wedges, (62), 62–67.
- Gough, B., & Gough, R. E. (2008). *An encyclopedia of small fruit*. CRC Press.
- Guerrero-Beltrán, J. a., Swanson, B. G., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Inhibition of polyphenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT - Food Science and Technology*, 38(6), 625–630.

- Hatamnia, A. A., Abbaspour, N., & Darvishzadeh, R. (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food chemistry*, *145*, 306–11.
- Hong, K., Xu, H., Wang, J., Zhang, L., Hu, H., Jia, Z., Gong, D. (2013). Quality changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at different temperatures. *Scientia Horticulturae*, *151*, 68–74.
- Ihl, M., Aravena, L., Scheuermann, E., Uquiche, E., & Bifani, V. (2003). Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. *LWT - Food Science and Technology*, *36*(6), 591–599.
- Infostat. (2010). InfoStat Software Estadístico. Revisado: Febrero 12, 2014. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=15>
- Jackson, R. S. (2000). Chemical Constituents of Grapes and Wine, Second., Brithys Library, pp. 270–331.
- Jackson, R. S. (2008). Grape Species and Varieties, thrid., Brityhs Library, pp 15-49.
- Jacobi, K. K., MacRae, E. a, & Hetherington, S. E. (2001). Postharvest heat disinfestation treatments of mango fruit. *Scientia Horticulturae*, *89*(3), 171–193.
- Jamali, a., Kouhila, M., Mohamed, L. A., Idlimam, a., & Lamharrar, a. (2006). Moisture adsorption–desorption isotherms of *Citrus reticulata* leaves at three temperatures. *Journal of Food Engineering*, *77*(1), 71–78.
- James M. Loessner Martin J. Golden David A. Jay M. (2005). *Modern Food Microbiology*. (Board, Ed.) (Seveth.), pp 679.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, *36*(2), 117–122.
- Jiménez, M. E., Zambrano, M. L., & Aguilar, M. R. (2004). Estabilidad de Pigmentos en Frutas Sometidas a Tratamiento con Energía de Microondas. *Información Tecnológica*, *15*(3), 61–66.
- Jongen, W. M. F. (2002). *Fruit and Vegetable Processing: Improving Quality*. Woodhead Publishing, pp 416.

- Kendra, K. V. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), 381–392.
- Ladanyia, M. (2010). *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. Academic Press, pp 594.
- Lamikanra, O., & Watson, M. a. (2007). Mild heat and calcium treatment effects on fresh-cut cantaloupe melon during storage. *Food Chemistry*, 102(4), 1383–1388.
- Liang, Z., Sang, M., Fan, P., Wu, B., Wang, L., Yang, S., & Li, S. (2011). CIELAB coordinates in response to berry skin anthocyanins and their composition in Vitis. *Journal of food science*, 76(3), C490–7.
- Lota, M.-L., de Rocca Serra, D., & Tomi, F. (2000). Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from Citrus reticulata Blanco. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(1), 61–78.
- Luna-guzma, I., & Barrett, D. M. (2000). Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes, 19, 61–72.
- Luna-guzma, I., Cantwell, M., & Barrett, D. M. (1999). Fresh-cut cantaloupe : effects of CaCl₂ dips and heat treatments on firmness and metabolic activity, 17, 201–213.
- Luo, Y., Lu, S., Zhou, B., & Feng, H. (2011). Dual effectiveness of sodium chlorite for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1621–1625.
- Magwaza, L. S., Opara, U. L., Cronje, P. J. R., Landahl, S., & Terry, L. A. (2013). Canopy position affects rind biochemical profile of “Nules Clementine” mandarin fruit during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 300–308.
- Marrero, A., & Adel A Kader. (2006). Optimal temperature and modified atmosphere for keeping quality of fresh-cut pineapples. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 163–168.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254 – 1255.

- Mehyar, G. F., Al-Qadiri, H. M., Abu-Blan, H. A., & Swanson, B. G. (2011). Antifungal Effectiveness of Potassium Sorbate Incorporated in Edible Coatings Against Spoilage Molds of Apples, Cucumbers, and Tomatoes during Refrigerated Storage. *Journal of Food Science*, 76(3), 210–217.
- Min, Z., Chunli, L., Yanjun, H., Qian, T., & Haiou, W. (2001). Preservation of fresh grapes at ice-temperature-high-humidity, (5), 139–143.
- Mohammad Jouki, & Naimeh Khazaei. (2014). Effect of low-dose gamma radiation and active equilibrium modified atmosphere packaging on shelf life extension of fresh strawberry fruits. *Food Packaging and Shelf Life*, 7.
- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M. A., & Martín-Belloso, O. (2008). Effect of packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *Postharvest Biology and Technology*, 50(2-3), 182–189.
- Núñez-Elisea, R., & Crane, J. H. (2000). Selective pruning and crop removal increase early-season fruit production of carambola (*Averrhoa carambola* L.). *Scientia Horticulturae*, 86(2), 115–126.
- Olaimat, A. N., & Holley, R. a. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food microbiology*, 32(1), 1–19.
- OMS. (2003). *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas: informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO*. (OMS, Serie de Informes Técnicos) (p. 152). Ginebra.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M. A., González, L. A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M. I. H., Martín-Belloso, O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 57(3), 139–148.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 87–94.
- Pandey, V. P., Singh, S., Jaiswal, N., Awasthi, M., Pandey, B., & Dwivedi, U. N. (2013). Papaya fruit ripening: ROS metabolism, gene cloning, characterization and molecular docking of peroxidase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 98, 98–105.

- Parnell, T. L. (2003). *Cantaloupe : Safe Methods to Store , Preserve , and Enjoy* (No. 8095) (pp. 5–5). Universidad de California, Davis. Revisado: Noviembre 10,2013, Disponible en: <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8095.pdf>
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 64–70.
- Perez Barraza, M. H., & Valdivia, V. V. (2004). *CARAMBOLO (Averroha carambola L.) SU CULTIVO Y PRODUCCION EN NAYARIT* (No. 2) (p. 50). Mexico: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Revisado: Octubre 21,2013, Disponible en: [http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1261/Carambolo %20en%20Nayarit.pdf?sequence=1](http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1261/Carambolo%20en%20Nayarit.pdf?sequence=1)
- Pérez, L. M., Soazo, M. del V., Balagué, C. E., Rubiolo, A. C., & Verdini, R. A. (2014). Effect of pH on the effectiveness of whey protein/glycerol edible films containing potassium sorbate to control non-O157 shiga toxin-producing Escherichia coli in ready-to-eat foods. *Food Control*, 37, 298–304.
- Pesis, E. (2005). The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 1–19.
- Plaza, L., Crespo, I., de Pascual-Teresa, S., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Muñoz, M., & Cano, M. P. (2011). Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124(2), 646–651.
- Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., & Aharoni, N. (2004). Reduction of postharvest rind disorders in citrus fruit by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 33(1), 35–43.
- Portela, S. C. (2001). Cutting Blade Sharpness Affects Appearance and Other Quality Attributes of Fresh-cut Cantaloupe Melon. *Food Chemistry and Toxicology*, 66(9).

- Ragaert Peter, J. L. (2003). Microbiological and Safety Aspects of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. In Taylor & Francis (Ed.), pp. 912–912.
- Rahman, M. S. (2007). *Handbook of Food Preservation, Second Edition*. Taylor & Francis, pp 1088.
- Rico, D., Martín-Diana, a. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 373–386.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A., & Martín-Belloso, O. (2009). Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut “Kent” mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 384–390.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., & Martin-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 240–246.
- Rocculi, P., Cocci, E., Romani, S., Sacchetti, G., & Rosa, M. D. (2009). Effect of 1-MCP treatment and N₂O MAP on physiological and quality changes of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 371–377.
- Rojas-Argudo, C., del Río, M. A., & Pérez-Gago, M. B. (2009). Development and optimization of locust bean gum (LBG)-based edible coatings for postharvest storage of “Fortune” mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, 52(2), 227–234.
- Rojas-Graü, M. a., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., & Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 254–264.
- Rojas-Graü, M. A., Tapia, M. S., & Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT - Food Science and Technology*, 41(1), 139–147.

- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., DiVenere, D., & Salerno, M. (2002). Effects of Pre- and Postharvest Chitosan Treatments to Control Storage Grey Mold of Table Grapes. *Journal of Food Science*, 67(5), 1862–1867.
- Romero, I., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., & Merodio, C. (2008). Individual anthocyanins and their contribution to total antioxidant capacity in response to low temperature and high CO₂ in stored Cardinal table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 1–9.
- Rupasinghe, H. p. V., Murr, D. P., DeELL, J. R., & Odumeru, J. (2005). Influence of 1-Methylcyclopropene and Natureseal on the Quality of Fresh-Cut “empire” and “crispin” Apples. *Journal of Food Quality*, 28(3), 289–307.
- Rustioni, L., Di Meo, F., Guillaume, M., Failla, O., & Trouillas, P. (2013). Tuning color variation in grape anthocyanins at the molecular scale. *Food Chemistry*, 141(4), 4349–4357.
- Saftner, R. a., Bai, J., Abbott, J. a., & Lee, Y. S. (2003). Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks. *Postharvest Biology and Technology*, 29(3), 257–269.
- Salunkhe, D. K., & Kadam, S. S. (1995). *Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage, and Processing*. Taylor & Francis, pp 632.
- Salunkhe, D. K., & Kadam, S. S. (1998). *Handbook of Vegetable Science and Technology: Production, Compositon, Storage, and Processing*. Taylor & Francis, pp 750.
- Sapers, G. M. (2001). Efficacy of Washing and Sanitizing Methods for Disinfection of Fresh Fruit and Vegetable Products. *Food Technology Biotechnoly*, 39(4), 305–311.
- Scifò, G. O., Randazzo, C. L., Restuccia, C., Fava, G., & Caggia, C. (2009). *Listeria innocua* growth in fresh cut mixed leafy salads packaged in modified atmosphere. *Food Control*, 20(7), 611–617.
- Sharma, R. R., Singh, R., & Saxena, S. K. (2006). Characteristics of citrus fruits in relation to granulation. *Scientia Horticulturae*, 111(1), 91–96.
- Shi, J. X., Porat, R., Goren, R., & Goldschmidt, E. E. (2005). Physiological responses of “Murcott” mandarins and “Star Ruby” grapefruit to anaerobic stress conditions and their

- relation to fruit taste, quality and emission of off-flavor volatiles. *Postharvest Biology and Technology*, 38(2), 99–105.
- Shi, J. X., Riov, J., Goren, R., Goldschmidt, E. E., & Porat, R. (2007). Regulatory Aspects of Ethanol Fermentation in Immature and Mature Citrus Fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(1), 126–133.
- Siddiq, M., Sogi, D. S., & Dolan, K. D. (2013). Antioxidant properties, total phenolics, and quality of fresh-cut “Tommy Atkins” mangoes as affected by different pre-treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 156–162.
- Silva, N. da, Taniwaki, M. H., Junqueira, V. C., Silveira, N., Nascimento, M. da S. do, & Gomes, R. A. R. (2012). *Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual* (pp 63-65). CRC Press.
- Silva, N., Taniwaki, M., Amstalden, V., & Abeilar, R. (2013). Aerobic Plate Count. In *Microbiological Examination Methods of Food and Water* (pp. 57–65). CRC Press.
- Silveira, A. C., Aguayo, E., Chisari, M., & Artés, F. (2011). Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut “Galia” melon. *Postharvest Biology and Technology*, 62(1), 77–84.
- Singh, S. P., & Pal, R. K. (2008). Controlled atmosphere storage of guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 296–306.
- Sivakumar, D., Jiang, Y., & Yahia, E. M. (2011). Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. *Food Research International*, 44(5), 1254–1263.
- Smilanick, J. L., Mansour, M. F., Gabler, F. M., & Sorenson, D. (2008). Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2), 226–238.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Roidoung, S., & Dolan, K. D. (2012). Total phenolics, carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant properties of fresh-cut mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkin) as affected by infrared heat treatment. *Journal of food science*, 77(11), C1197-202.

- Soliva-Fortuny, R. C., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2004). Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(2), 215–224.
- Soliva-Fortuny, R. C., Grigelmo-Miguel, N., Hernando, I., Lluch, M. A., & Martín-Belloso, O. (2002). Effect of minimal processing on the textural and structural properties of fresh-cut pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1682-1688.
- Teixeira, G. H. A., Durigan, J. F., Alves, R. E., & O'Hare, T. J. (2007). Use of modified atmosphere to extend shelf life of fresh-cut carambola (*Averrhoa carambola* L. cv. Fwang Tung). *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), 80–85.
- Tharanathan, R. . (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 71–78.
- Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Físicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51–56.
- Uez, Q., Tiz, R., Al, Y., Al, A. V., Vier, A., & Tel, O. (2005). S : Sensory and Nutritive Qualities of Food Cutting Shape and Storage Temperature Affect Overall Quality of Fresh-cut Papaya cv . “ Maradol ”, 70(7), 482–489.
- USDA. (2004). *The World Fresh Fruit Market* (p. 12). Revisado: Octubre 29,2013, Disponible en:
<http://www.fas.usda.gov/htp/Presentations/2004/World%20Fresh%20Fruit%20Market%20%2808-04%29.pdf>
- USDA. (2010). National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Revisado: October 28, 2013, Disponible en:
<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2288?fg=&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=mango>
- USDA. (2013). Vegetables,2012 Summary. Revisado: November 10, 2013, Disponible en:
<http://usda01.library.cornell.edu/usda/current/VegeSumm/VegeSumm-01-29-2013.pdf>

- USDA ERS. (2012). USDA Economic Research Service - Food Availability (Per Capita) Data System. Revisado: October 28, 2013, Disponible en: [http://www.ers.usda.gov/data-products/food-availability-\(per-capita\)-data-system.aspx#.Um6o4xAUN8N](http://www.ers.usda.gov/data-products/food-availability-(per-capita)-data-system.aspx#.Um6o4xAUN8N)
- Wang, G., Clark, C. G., & Rodgers, F. G. (2002). Detection in *Escherichia coli* of the Genes Encoding the Major Virulence Factors, the Genes Defining the O157:H7 Serotype, and Components of the Type 2 Shiga Toxin Family by Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(10), 3613–3619.
- Watkins, C. B. (2000). Responses of Horticultural Commodities to High Carbon Dioxide as Related to Modified Atmosphere Packaging. *HortTechnology*, *10*(3), 501–506.
- Zheng, X., & Tian, S. (2006). Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. *Food Chemistry*, *96*(4), 519–523.

9. APÉNDICE

9.1 Análisis estadístico

9.1.1 Análisis de varianza para aerobios totales

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Log UFC/g PCA	54	0.27	0.00	36.46

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	35.05	17	2.06	0.80	0.6824
Tratamiento	0.01	1	0.01	3.6E-03	0.9524
Día	29.90	8	3.74	1.45	0.2101
Tratamiento*Día	5.14	8	0.64	0.25	0.9779
Error	92.82	36	2.58		
Total	127.86	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.88630

Error: 2.5782 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

1.00	4.42	27	0.31	A
2.00	4.39	27	0.31	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

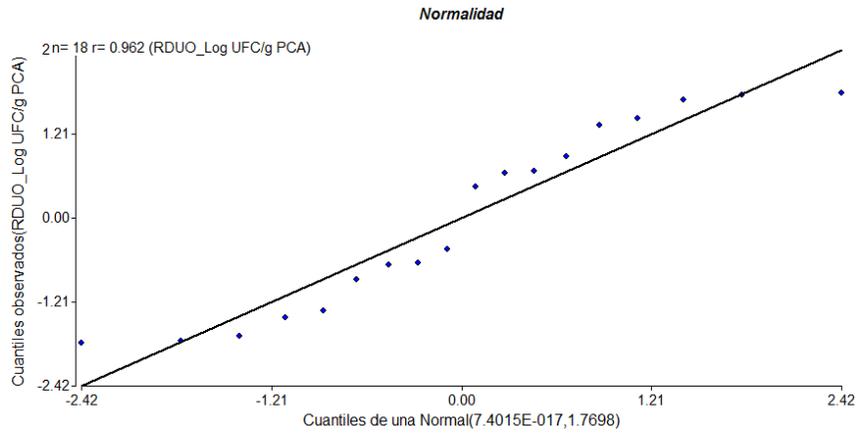
Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.88012

Error: 2.5782 gl: 36

Día Medias n E.E.

16.00	5.49	6	0.66	A
24.00	4.82	6	0.66	A B
20.00	4.71	6	0.66	A B C
28.00	4.62	6	0.66	A B C
32.00	4.60	6	0.66	A B C
8.00	4.56	6	0.66	A B C
12.00	4.55	6	0.66	A B C
4.00	3.43	6	0.66	B C
0.00	2.84	6	0.66	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)



9.1.2 Análisis de varianza para hongos, mohos y levaduras

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Log UFC/g PDA	54	0.78	0.68	22.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	79.72	17	4.69	7.62	<0.0001
Tratamiento	0.19	1	0.19	0.32	0.5777
Día	71.85	8	8.98	14.59	<0.0001
Tratamiento*Día	7.68	8	0.96	1.56	0.1719
Error	22.16	36	0.62		
Total	101.87	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.43304

Error: 0.6155 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

1.00 3.58 27 0.15 A

2.00 3.46 27 0.15 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.91861

Error: 0.6155 gl: 36

Día Medias n E.E.

32.00 6.05 6 0.32 A

28.00 4.32 6 0.32 B

24.00 4.29 6 0.32 B

20.00 3.47 6 0.32 B C

16.00 3.37 6 0.32 C

8.00 2.88 6 0.32 C D

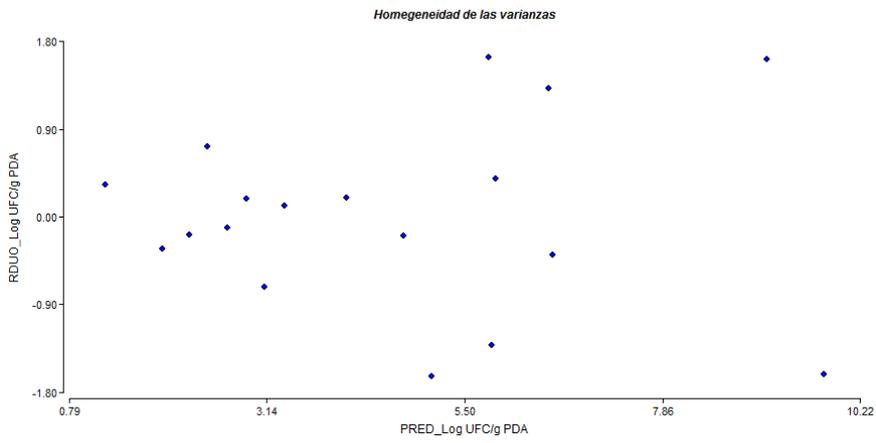
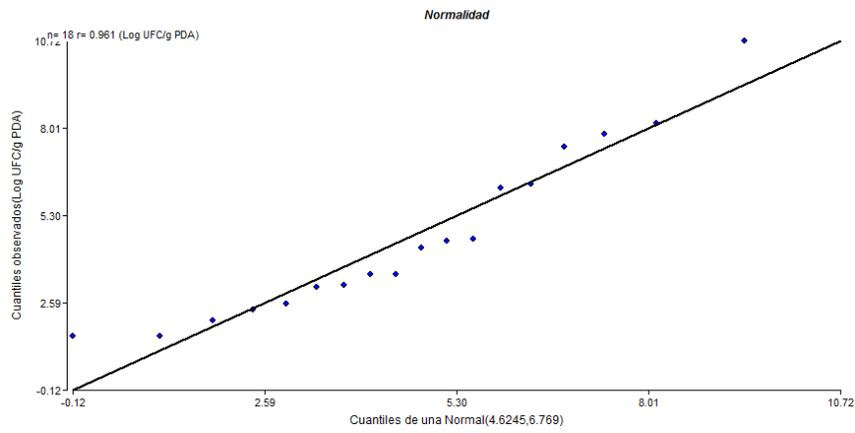
4.00 2.65 6 0.32 C D

12.00 2.63 6 0.32 C D

0.00 1.98 6 0.32 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Supuestos:



9.1.3 Análisis de varianza para pH

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	54	0.40	0.11	3.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.51	17	0.03	1.39	0.1963
Dia	0.38	8	0.05	2.22	0.0485
Tratamiento	0.01	1	0.01	0.53	0.4726
Dia*Tratamiento	0.12	8	0.01	0.67	0.7119
Error	0.77	36	0.02		
Total	1.28	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.17123

Error: 0.0214 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.	
12.00	4.18	6	0.06	A
28.00	4.11	6	0.06	A B
32.00	4.10	6	0.06	A B
24.00	4.06	6	0.06	A B C
16.00	4.01	6	0.06	B C
8.00	4.00	6	0.06	B C
4.00	3.99	6	0.06	B C
20.00	3.92	6	0.06	C
0.00	3.92	6	0.06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

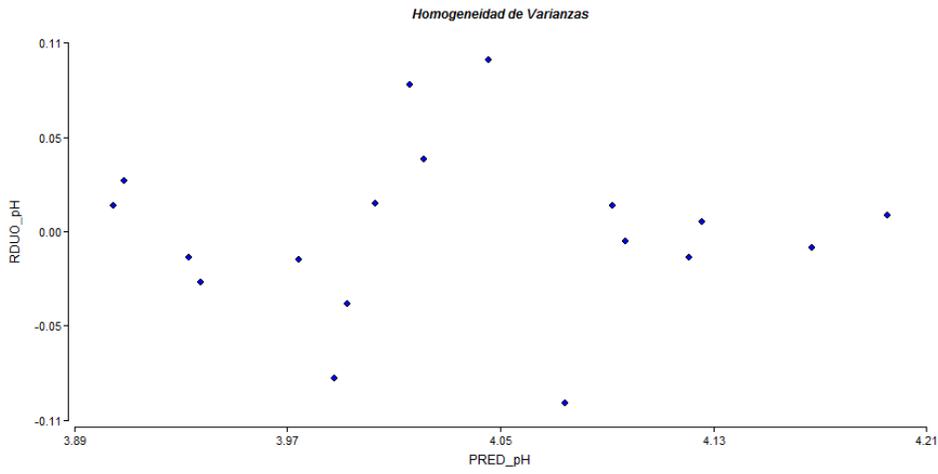
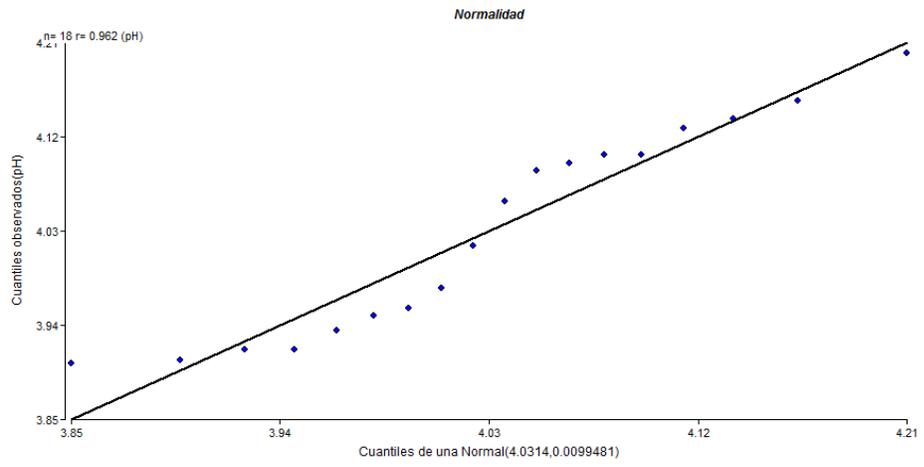
Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.08072

Error: 0.0214 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2.00	4.05	27	0.03	A
1.00	4.02	27	0.03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Supuestos:



9.1.4 Análisis de varianza para color

9.1.4.1 Chroma melón

Chroma Melón

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Melón	54	0.32	0.00	21.89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	973.59	17	57.27	0.98	0.5022
Tratamiento	9.48	1	9.48	0.16	0.6900
Dia	930.11	8	116.26	1.98	0.0771
Tratamiento*Dia	34.00	8	4.25	0.07	0.9997
Error	2110.56	36	58.63		
Total	3084.15	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=4.22638

Error: 58.6266 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

1.00	35.39	27	1.47	A
2.00	34.55	27	1.47	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=8.96550

Error: 58.6266 gl: 36

Dia Medias n E.E.

4.00	44.36	6	3.13	A
8.00	40.47	6	3.13	A B
20.00	34.24	6	3.13	B C
12.00	33.16	6	3.13	B C
24.00	33.02	6	3.13	B C
16.00	32.98	6	3.13	B C
28.00	32.80	6	3.13	B C
32.00	32.52	6	3.13	B C
0.00	31.19	6	3.13	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.2 Hue melón

Hue Melón

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Melón	54	0.19	0.00	9.29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	178.63	17	10.51	0.49	0.9415
Tratamiento	1.64	1	1.64	0.08	0.7838
Día	122.37	8	15.30	0.71	0.6788
Tratamiento*Día	54.62	8	6.83	0.32	0.9540
Error	772.80	36	21.47		
Total	951.43	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.55743

Error: 21.4668 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	50.05	27	0.89 A
2.00	49.70	27	0.89 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.42514

Error: 21.4668 gl: 36

Día	Medias	n	E.E.
4.00	52.75	6	1.89 A
8.00	51.59	6	1.89 A
0.00	50.54	6	1.89 A
16.00	50.49	6	1.89 A
32.00	49.59	6	1.89 A
28.00	48.96	6	1.89 A
12.00	48.47	6	1.89 A
20.00	48.44	6	1.89 A
24.00	48.03	6	1.89 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.3 Chroma mandarina

Chroma Mand

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Mand	54	0.28	0.00	30.38

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1362.39	17	80.14	0.81	0.6678
Tratamiento	1.13	1	1.13	0.01	0.9152
Día	1327.98	8	166.00	1.69	0.1357
Tratamiento*Día	33.28	8	4.16	0.04	>0.9999
Error	3545.05	36	98.47		
Total	4907.44	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.47749

Error: 98.4737 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	32.81	27	1.91 A
2.00	32.52	27	1.91 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=11.61950

Error: 98.4737 gl: 36

Día	Medias	n	E.E.
4.00	44.48	6	4.05 A
8.00	38.35	6	4.05 A B
12.00	31.34	6	4.05 B
0.00	31.02	6	4.05 B
24.00	30.80	6	4.05 B
20.00	30.15	6	4.05 B
28.00	29.95	6	4.05 B
32.00	29.16	6	4.05 B
16.00	28.73	6	4.05 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.4 Hue mandarina

Hue Mand

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Mand	54	0.42	0.14	7.82

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	567.89	17	33.41	1.53	0.1399
Tratamiento	4.8E-03	1	4.8E-03	2.2E-04	0.9882
Día	294.53	8	36.82	1.68	0.1362
Tratamiento*Día	273.35	8	34.17	1.56	0.1707
Error	787.08	36	21.86		
Total	1354.96	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.58094

Error: 21.8633 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

2.00	59.82	27	0.90	A
1.00	59.81	27	0.90	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.47501

Error: 21.8633 gl: 36

Día Medias n E.E.

8.00	62.23	6	1.91	A
28.00	62.16	6	1.91	A
4.00	61.80	6	1.91	A
32.00	60.69	6	1.91	A B
16.00	60.55	6	1.91	A B
20.00	59.78	6	1.91	A B
24.00	59.53	6	1.91	A B
12.00	56.07	6	1.91	B
0.00	55.53	6	1.91	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.4.5 Chroma carambola

Chroma Caramb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Caramb	54	0.24	0.00	33.66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	901.06	17	53.00	0.65	0.8246
Tratamiento	0.37	1	0.37	4.6E-03	0.9462
Dia	842.82	8	105.35	1.30	0.2749
Tratamiento*Dia	57.86	8	7.23	0.09	0.9993
Error	2918.62	36	81.07		
Total	3819.68	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=4.97003

Error: 81.0729 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
2.00	26.83	27	1.73 A
1.00	26.66	27	1.73 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=10.54302

Error: 81.0729 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.
4.00	35.16	6	3.68 A
8.00	32.04	6	3.68 A B
0.00	27.69	6	3.68 A B
24.00	25.74	6	3.68 A B
16.00	24.93	6	3.68 A B
12.00	24.41	6	3.68 B
20.00	24.00	6	3.68 B
28.00	23.93	6	3.68 B
32.00	22.81	6	3.68 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.6 Hue carambola

Hue Caramb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Caramb	54	0.16	0.00	15.92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	786.26	17	46.25	0.40	0.9775
Tratamiento	1.17	1	1.17	0.01	0.9206
Dia	190.15	8	23.77	0.20	0.9882
Tratamiento*Dia	594.94	8	74.37	0.64	0.7397
Error	4189.28	36	116.37		
Total	4975.54	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.95442

Error: 116.3689 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	67.91	27	2.08 A
2.00	67.62	27	2.08 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=12.63124

Error: 116.3689 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.
4.00	71.11	6	4.40 A
8.00	69.73	6	4.40 A
32.00	68.56	6	4.40 A
20.00	68.39	6	4.40 A
28.00	67.37	6	4.40 A
12.00	67.17	6	4.40 A
24.00	67.05	6	4.40 A
16.00	66.24	6	4.40 A
0.00	64.26	6	4.40 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.7 Chroma mango

Chroma Mango

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Mango	54	0.25	0.00	26.53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1295.14	17	76.18	0.71	0.7768
Tratamiento	0.74	1	0.74	0.01	0.9345
Día	1268.73	8	158.59	1.47	0.2031
Tratamiento*Día	25.68	8	3.21	0.03	>0.9999
Error	3888.00	36	108.00		
Total	5183.14	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.73631

Error: 107.9999 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

1.00	39.28	27	2.00	A
2.00	39.05	27	2.00	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=12.16856

Error: 107.9999 gl: 36

Día Medias n E.E.

4.00	51.10	6	4.24	A
8.00	44.31	6	4.24	A B
20.00	37.04	6	4.24	B
24.00	37.00	6	4.24	B
0.00	36.92	6	4.24	B
28.00	36.84	6	4.24	B
32.00	36.77	6	4.24	B
16.00	36.36	6	4.24	B
12.00	36.14	6	4.24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.8 Hue mango

Hue Mango

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Mango	54	0.21	0.00	8.55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	345.04	17	20.30	0.55	0.9052
Tratamiento	167.38	1	167.38	4.54	0.0399
Día	129.33	8	16.17	0.44	0.8896
Tratamiento*Día	48.34	8	6.04	0.16	0.9943
Error	1326.21	36	36.84		
Total	1671.25	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.35024

Error: 36.8391 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

2.00	72.78	27	1.17	A
1.00	69.26	27	1.17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=7.10692

Error: 36.8391 gl: 36

Día Medias n E.E.

8.00	73.66	6	2.48	A
4.00	73.29	6	2.48	A
0.00	71.24	6	2.48	A
20.00	71.01	6	2.48	A
24.00	70.95	6	2.48	A
12.00	70.91	6	2.48	A
16.00	70.26	6	2.48	A
28.00	68.96	6	2.48	A
32.00	68.89	6	2.48	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.4.9 Chroma uva

Chroma Uva

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Uva	54	0.23	0.00	62.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	243.67	17	14.33	0.62	0.8564
Tratamiento	0.75	1	0.75	0.03	0.8588
Día	198.47	8	24.81	1.07	0.4072
Tratamiento*Día	44.45	8	5.56	0.24	0.9806
Error	837.02	36	23.25		
Total	1080.69	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.66157

Error: 23.2505 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

1.00	7.86	27	0.93	A
2.00	7.63	27	0.93	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.64604

Error: 23.2505 gl: 36

Día Medias n E.E.

4.00	12.23	6	1.97	A
8.00	8.65	6	1.97	A B
16.00	8.44	6	1.97	A B
12.00	8.28	6	1.97	A B
0.00	7.76	6	1.97	A B
24.00	6.49	6	1.97	B
20.00	6.23	6	1.97	B
32.00	6.01	6	1.97	B
28.00	5.61	6	1.97	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.4.10 Hue uva

Hue Uva

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Uva	54	0.23	0.00	72.22

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3632.48	17	213.68	0.64	0.8407
Tratamiento	12.89	1	12.89	0.04	0.8459
Dia	3150.97	8	393.87	1.17	0.3430
Tratamiento*Dia	468.62	8	58.58	0.17	0.9931
Error	12108.97	36	336.36		
Total	15741.45	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=10.12333

Error: 336.3604 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
2.00	25.88	27	3.53 A
1.00	24.91	27	3.53 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=21.47484

Error: 336.3604 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.
4.00	37.32	6	7.49 A
0.00	36.68	6	7.49 A
16.00	30.86	6	7.49 A
12.00	27.31	6	7.49 A
8.00	24.36	6	7.49 A
32.00	18.98	6	7.49 A
24.00	18.60	6	7.49 A
28.00	17.58	6	7.49 A
20.00	16.87	6	7.49 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.11 Chroma piña

Chroma Piña

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Piña	54	0.23	0.00	25.11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	669.08	17	39.36	0.63	0.8419
Tratamiento	6.39	1	6.39	0.10	0.7502
Día	583.78	8	72.97	1.18	0.3405
Tratamiento*Día	78.90	8	9.86	0.16	0.9949
Error	2235.31	36	62.09		
Total	2904.38	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=4.34949

Error: 62.0918 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	31.73	27	1.52 A
2.00	31.04	27	1.52 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=9.22666

Error: 62.0918 gl: 36

Día	Medias	n	E.E.
4.00	38.62	6	3.22 A
8.00	35.55	6	3.22 A B
12.00	32.23	6	3.22 A B
28.00	30.20	6	3.22 A B
32.00	29.66	6	3.22 A B
24.00	29.56	6	3.22 A B
20.00	29.48	6	3.22 A B
0.00	28.71	6	3.22 B
16.00	28.48	6	3.22 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.4.12 Hue piña

Hue Piña

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Piña	54	0.43	0.17	2.85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	161.76	17	9.52	1.62	0.1103
Tratamiento	7.65	1	7.65	1.30	0.2616
Día	126.55	8	15.82	2.69	0.0198
Tratamiento*Día	27.57	8	3.45	0.59	0.7823
Error	211.55	36	5.88		
Total	373.32	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.33808

Error: 5.8765 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

2.00	85.32	27	0.47	A
1.00	84.57	27	0.47	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.83849

Error: 5.8765 gl: 36

Día Medias n E.E.

28.00	87.03	6	0.99	A
24.00	86.78	6	0.99	A
32.00	86.62	6	0.99	A
20.00	85.37	6	0.99	A B
12.00	85.30	6	0.99	A B
0.00	83.72	6	0.99	B
8.00	83.40	6	0.99	B
16.00	83.17	6	0.99	B
4.00	83.16	6	0.99	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.13 Chroma naranja

Chroma Naraj

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Chroma Naraj	54	0.28	0.00	28.67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1128.02	17	66.35	0.84	0.6438
Tratamiento	5.18	1	5.18	0.07	0.7997
Dia	1088.01	8	136.00	1.72	0.1283
Tratamiento*Dia	34.83	8	4.35	0.05	0.9999
Error	2854.03	36	79.28		
Total	3982.05	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=4.91472

Error: 79.2786 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	31.37	27	1.71 A
2.00	30.75	27	1.71 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=10.42570

Error: 79.2786 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.
4.00	41.37	6	3.63 A
8.00	36.97	6	3.63 A B
12.00	29.26	6	3.63 B
20.00	29.14	6	3.63 B
32.00	29.08	6	3.63 B
24.00	29.08	6	3.63 B
28.00	28.83	6	3.63 B
0.00	28.42	6	3.63 B
16.00	27.40	6	3.63 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.4.14 Hue naranja

Hue Naranj

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hue Naranj	54	0.22	0.00	6.90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	280.95	17	16.53	0.58	0.8844
Tratamiento	0.10	1	0.10	3.5E-03	0.9533
Dia	180.94	8	22.62	0.79	0.6111
Tratamiento*Dia	99.91	8	12.49	0.44	0.8897
Error	1024.99	36	28.47		
Total	1305.94	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.94530

Error: 28.4719 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
2.00	77.37	27	1.03 A
1.00	77.29	27	1.03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=6.24793

Error: 28.4719 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.
20.00	80.09	6	2.18 A
28.00	79.49	6	2.18 A B
32.00	78.37	6	2.18 A B
24.00	77.59	6	2.18 A B
8.00	77.31	6	2.18 A B
4.00	76.70	6	2.18 A B
12.00	76.65	6	2.18 A B
16.00	76.26	6	2.18 A B
0.00	73.50	6	2.18 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.5 Análisis de varianza para textura

9.1.5.1 Textura melón

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Textura (N) Melón	54	0.20	0.03	61.91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1027.47	9	114.16	1.20	0.3212
Tratamiento	501.41	1	501.41	5.26	0.0267
Día	526.05	8	65.76	0.69	0.6986
Error	4197.51	44	95.40		
Total	5224.97	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.35743

Error: 95.3979 gl: 44

Tratamiento	Medias	n	E.E.
2.00	18.82	27	1.88 A
1.00	12.73	27	1.88 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=11.36483

Error: 95.3979 gl: 44

Día	Medias	n	E.E.
0.00	21.91	6	3.99 A
32.00	20.10	6	3.99 A
28.00	16.19	6	3.99 A
24.00	15.56	6	3.99 A
4.00	15.12	6	3.99 A
20.00	14.30	6	3.99 A
16.00	14.28	6	3.99 A
12.00	13.19	6	3.99 A
8.00	11.35	6	3.99 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.5.2 Textura piña

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Textura (N) Piña	54	0.38	0.26	22.78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	223.55	9	24.84	3.05	0.0064
Tratamiento	0.71	1	0.71	0.09	0.7700
Día	222.85	8	27.86	3.42	0.0039
Error	358.90	44	8.16		
Total	582.45	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.56656

Error: 8.1568 gl: 44

Tratamiento Medias n E.E.

2.00	12.65	27	0.55	A
1.00	12.42	27	0.55	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.32317

Error: 8.1568 gl: 44

Día Medias n E.E.

12.00	16.74	6	1.17	A
16.00	14.13	6	1.17	A B
4.00	13.93	6	1.17	A B
0.00	12.56	6	1.17	B C
24.00	12.29	6	1.17	B C
8.00	11.79	6	1.17	B C
28.00	11.12	6	1.17	B C
20.00	10.80	6	1.17	B C
32.00	9.48	6	1.17	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

9.1.6 Concentración de gases en el espacio libre de la bandeja

%CO₂

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%CO ₂	54	0.47	0.23	42.61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5492.97	17	323.12	1.92	0.0499
Día	5187.53	8	648.44	3.84	0.0023
Tratamiento	16.61	1	16.61	0.10	0.7555
Día*Tratamiento	288.83	8	36.10	0.21	0.9863
Error	6071.60	36	168.66		
Total	11564.57	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=15.20645

Error: 168.6556 gl: 36

Día	Medias	n	E.E.	
32.00	46.43	6	5.30	A
28.00	42.88	6	5.30	A B
24.00	42.25	6	5.30	A B
20.00	28.77	6	5.30	B C
16.00	25.97	6	5.30	C
12.00	23.47	6	5.30	C
8.00	23.18	6	5.30	C
0.00	20.71	6	5.30	C
4.00	20.63	6	5.30	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=7.16839

Error: 168.6556 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2.00	31.03	27	2.50	A
1.00	29.92	27	2.50	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

%O2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%O2	54	0.98	0.96	22.91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30.38	17	1.79	85.41	<0.0001
Dia	29.98	8	3.75	179.09	<0.0001
Tratamiento	4.6E-03	1	4.6E-03	0.22	0.6409
Dia*Tratamiento	0.40	8	0.05	2.37	0.0365
Error	0.75	36	0.02		
Total	31.14	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.16938

Error: 0.0209 gl: 36

Dia	Medias	n	E.E.	
32.00	2.68	6	0.06	A
24.00	0.68	6	0.06	B
8.00	0.47	6	0.06	C
20.00	0.45	6	0.06	C D
28.00	0.40	6	0.06	C D
16.00	0.38	6	0.06	C D
12.00	0.33	6	0.06	C D
4.00	0.28	6	0.06	D
0.00	0.00	6	0.06	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.07985

Error: 0.0209 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2.00	0.64	27	0.03	A
1.00	0.62	27	0.03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.7 Porcentaje de Pérdida de peso

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%M	54	0.63	0.55	39.75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2754.99	9	306.11	8.20	<0.0001
Dias	2010.78	8	251.35	6.73	<0.0001
Tratamiento	744.22	1	744.22	19.93	0.0001
Error	1642.99	44	37.34		
Total	4397.98	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=7.11024

Error: 37.3406 gl: 44

Dias	Medias	n	E.E.	
20.00	20.07	6	2.49	A
12.00	19.78	6	2.49	A
24.00	18.65	6	2.49	A
8.00	17.95	6	2.49	A
16.00	17.78	6	2.49	A
32.00	17.06	6	2.49	A B
28.00	17.04	6	2.49	A B
4.00	10.04	6	2.49	B
0.00	0.00	6	2.49	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.35180

Error: 37.3406 gl: 44

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2.00	19.09	27	1.18	A
1.00	11.66	27	1.18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

9.1.8 Prueba de análisis sensorial

Hoja del panelista

Panelista _____ 13 de abril de 2012 Prueba: Diferente al Control Producto: Melón Cantaloupe

INSTRUCCIONES: Usted ha sido provisto con 5 muestras de melón cantaloupe. Nos interesa saber cuán diferente es cada muestra de lo que usted entiende que es un melón cantaloupe fresco en términos de sabor. Para ello, pruebe cada muestra por separado y tome agua entre muestras para limpiar su boca. Con cada muestra haga lo siguiente.

- Escriba el número de muestra en el espacio provisto
- Use la escala provista para describir la diferencia percibida entre la muestra evaluada y su recuerdo de lo que es un melón cantaloupe fresco
- Marque con una X el espacio en la escala que mejor describa la diferencia percibida.

Añada algún comentario en el espacio provisto, si lo desea, para describir las diferencias percibidas.

Número de Muestra	_____	_____	_____	_____	_____
Nada diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Poco diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Moderadamente diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Bastante diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Muy diferente	_____	_____	_____	_____	_____
Extremadamente diferente	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios: _____

Resultados estadísticos

ColGroup	Means	n	S.E.	
Control	1.96	24	0.26	A
NS 1min	2.79	24	0.26	A B
NS 2min	2.88	24	0.26	A B
0.05%SP 1min	3.04	24	0.26	B
1/NS 2 min	3.04	24	0.26	B

Means with a common letter are not significantly different (p<= 0.05)

```
Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=1.07859
Error: 1.7247 df: 88
ColGroup Means n S.E.
N2      1.96 23 0.27 A
Control 1.96 23 0.27 A
SP      2.74 23 0.27 A B
All     3.43 23 0.27 B
NS      3.74 23 0.27 B
Means with a common letter are not significantly different (p<= 0.05)
```

9.2 Guías de interpretación microbiológica

9.2.1 Conteo de aerobios totales

3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates

For detailed WARNINGS, CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see product's package insert.

Reminders
for use



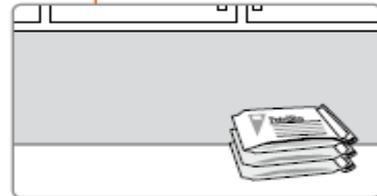
Storage



1 Refrigerate unopened packages of Petrifilm count plates. Use before expiration date on package.



2 To seal opened package, fold end over and secure with tape or a clip.



3 Keep resealed package at $\leq 21^{\circ}\text{C}$ ($\leq 70^{\circ}\text{F}$), $\leq 50\% \text{RH}$. **Do not refrigerate opened packages.** Use Petrifilm count plates within one month after opening.

Sample Preparation



4 Prepare a 1:10 or greater dilution of food product. Weigh or pipette food product into a stomacher bag, dilution bottle, or other appropriate sterile container.



5 Add appropriate quantity of diluent. These include Standard Methods phosphate buffer, 0.1% peptone water, distilled water, phosphate buffered saline, and Butterfield's buffer. **Do not** use buffers containing sodium citrate or thio-sulfate.

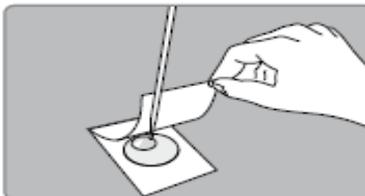


6 Blend or homogenise sample as per current procedure.

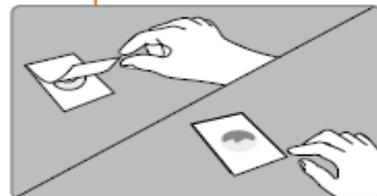
Inoculation



7 Place Petrifilm EL plate on level surface. Lift top film.

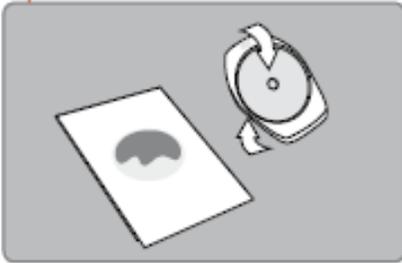


8 With pipette perpendicular to Petrifilm plate, place 1 mL of sample onto centre of bottom film.

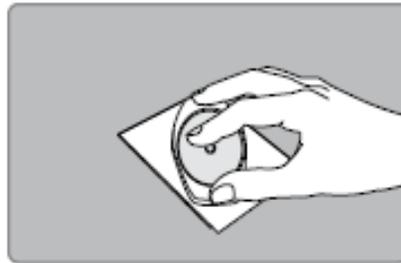


9 Release top film; allow it to Drop. **Do not** roll top film down.

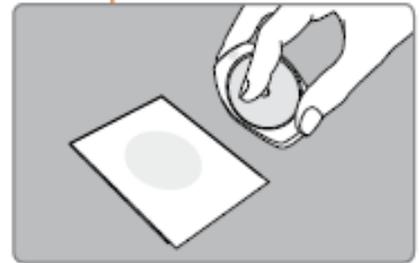
Inoculation



10 With ridge side down, place spreader on top film over inoculum.

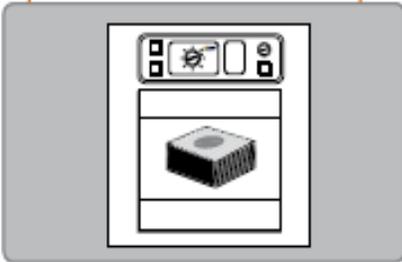


11 **Gently** apply pressure on spreader to distribute inoculum over circular area. Do not twist or slide the spreader.



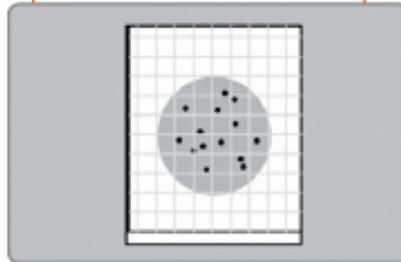
12 Lift spreader. Wait one minute for gel to solidify.

Incubation



13 Incubate Petrifilm count plates with the clear side up in stacks of 20 or less, at a temperature of 30°C +/- 1°C for 48 +/- 2 hours (for all products dairy and raw shellfishes excepted) or for 72 +/- 2 hours for all products.

Interpretation

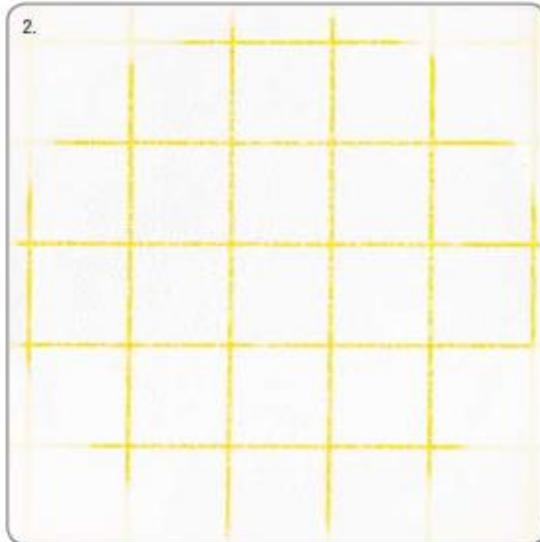


14 Read colonies. A colony counter or any other magnifier light source can be used. Refer to Guide to Interpretation when reading results.

Additional Comments

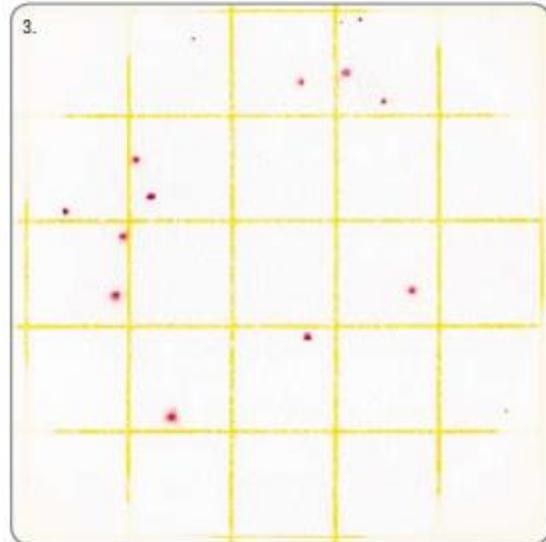
- Steps 9 and 10 are unique to Petrifilm Aerobic count plates.
- Note: Remember to inoculate and spread each Petrifilm count plate before going on to the next.

3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates



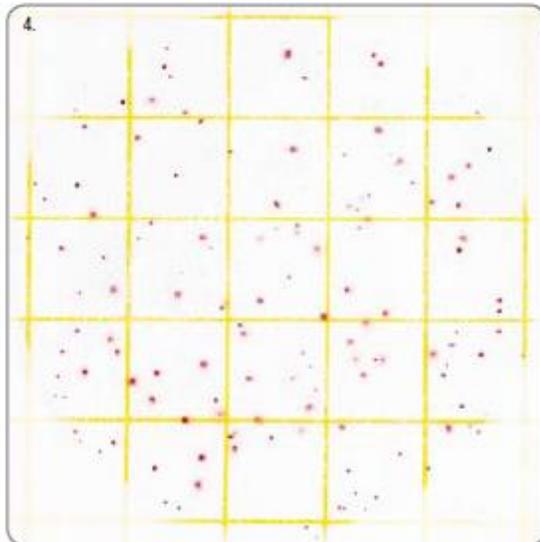
Count = 0

It is easy to interpret the Petrifilm Aerobic count plate. Figure 2 shows a Petrifilm Aerobic count plate without colonies.



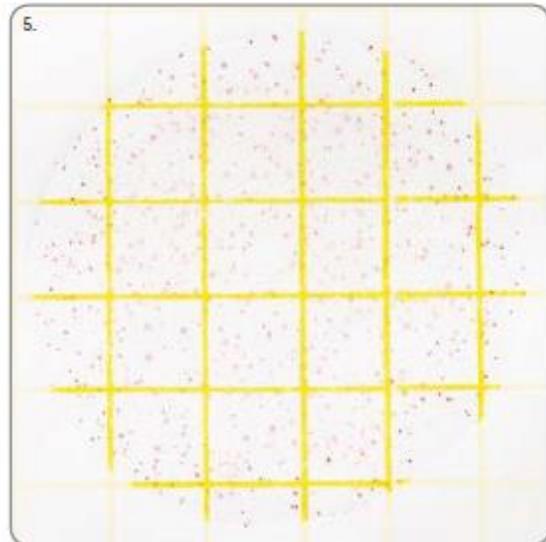
Count = 16

Figure 3 shows a Petrifilm Aerobic count plate with a few bacterial colonies. A red indicator dye in the count plate colours the colonies. Count all red colonies regardless of sizes or colour intensities. Use a standard Quebec-type counter to read the Petrifilm count plate.



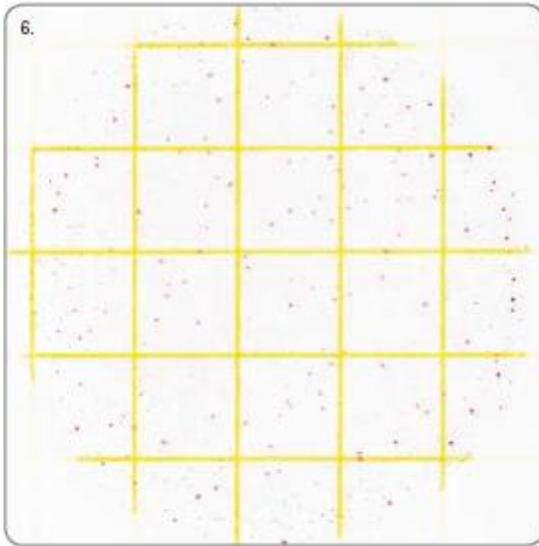
Count = 143

As with an agar pour plate, the preferable counting range on a Petrifilm Aerobic count plate is 10-300 colonies. See figure 4.



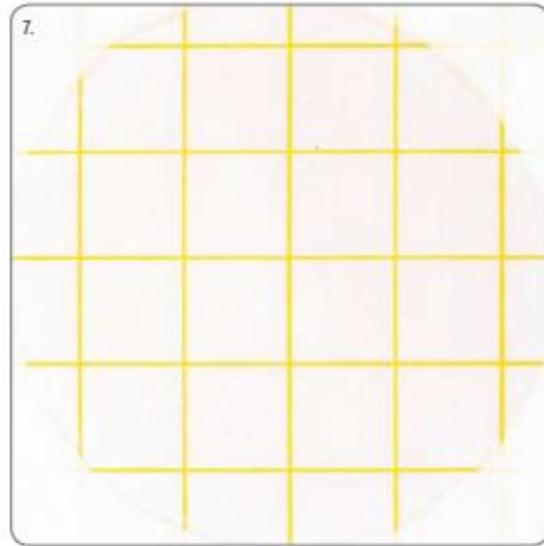
Estimated count = 420

When colonies number more than 300 as in figure 5, estimate the count. Determine the average number of colonies in one square (1 cm²) and multiply it by 20 to obtain the total count per count plate. The inoculated area on a Petrifilm Aerobic count plate is approximately 20 cm².



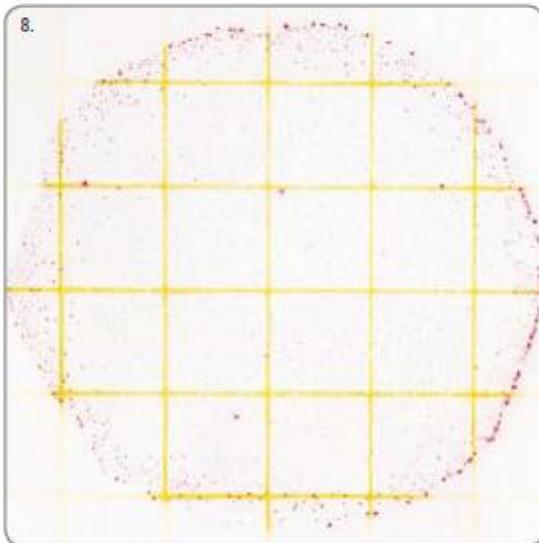
Count = TNTC

Figure 6 shows a Petrifilm Aerobic count plate with colonies that are too numerous to count (TNTC).



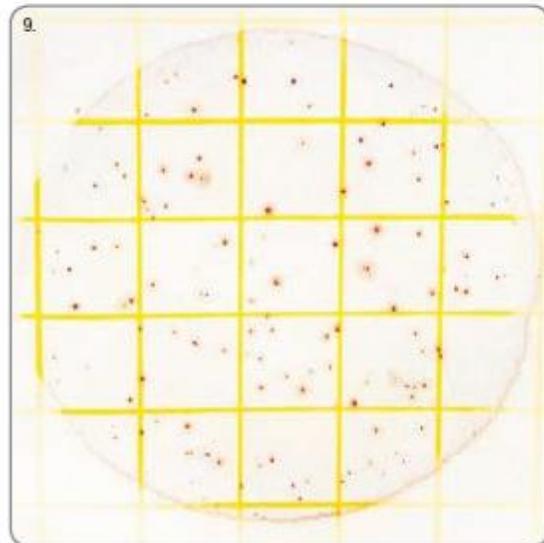
Count = TNTC

With very high counts, the entire growth area may turn pink, as shown in figure 7. You might observe individual colonies only at the edge of the growth area. Record this as a TNTC result.



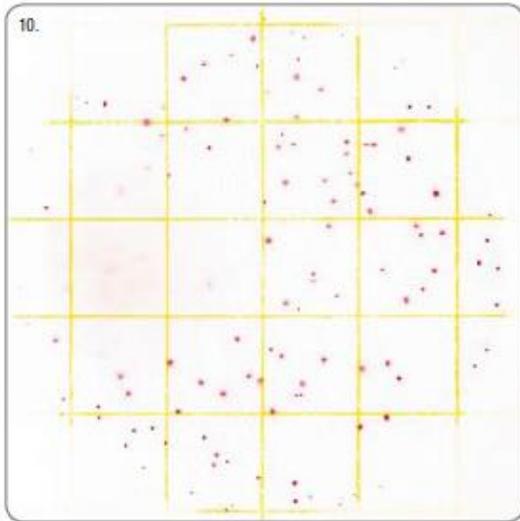
Count = TNTC

Occasionally, distribution of colonies appears uneven as shown in figure 8. This is also an indication of a TNTC result. In fact, the distribution is even.



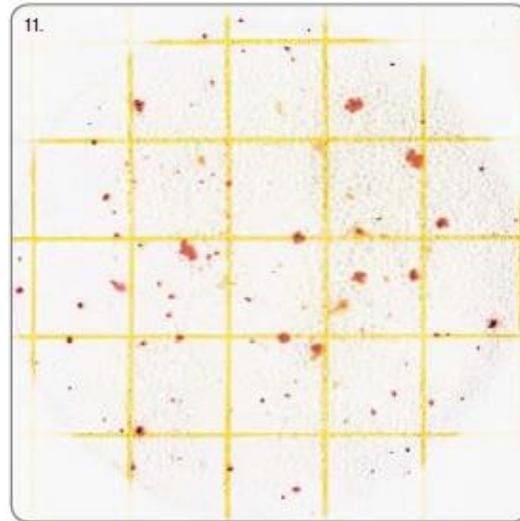
Count = TNTC

The colonies on the Petrifilm Aerobic count plate in figure 9 appear countable at first glance. However, when you look closely at the edges of the growth area, you can see a high concentration of colonies. Record this as a TNTC result.



Estimated count = 160

A few species of bacteria liquify the gel in the Petrifilm Aerobic count plate, as shown in figure 10. When this occurs, determine the average count in a few unaffected squares and then estimate the total count. Do not count red spots within the liquified area.



Count = 83

Colonies on Petrifilm Aerobic count plates are red and can be easily distinguished from opaque food particles that may cause confusion with agar pour plates. See figure 11.

9.2.2 Hongos, mohos y levaduras

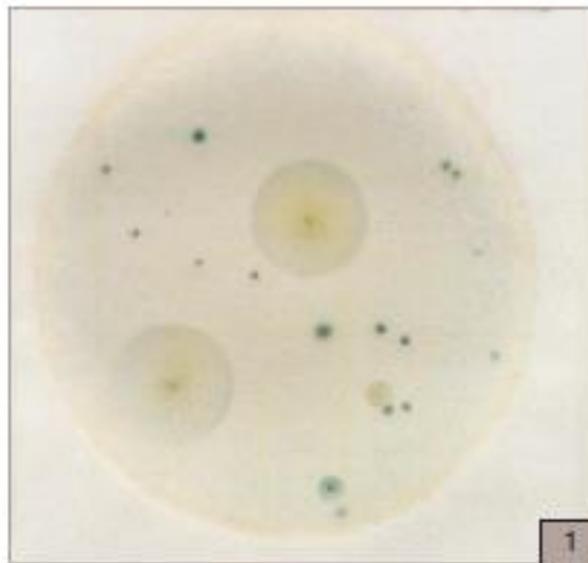
3M Interpretation Guide

Petrifilm™

Yeast and Mold Count Plate

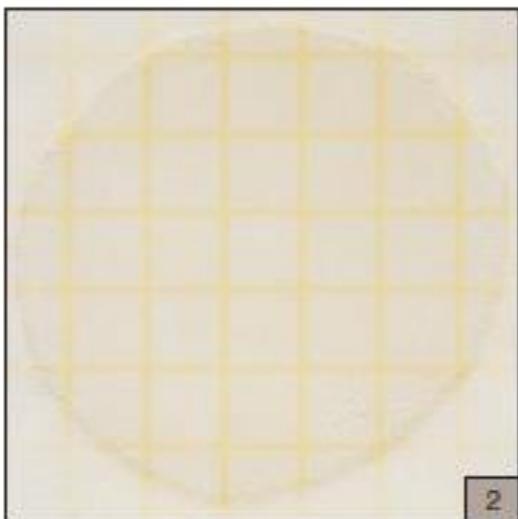
This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates. For more information, contact the 3M Microbiology representative nearest you.

The Petrifilm™ Yeast and Mold (YM) Count Plate is a ready-made culture medium that contains a cold-water soluble gelling agent, nutrients and an indicator dye to provide contrast and facilitate counting.



Total Count = 20
Yeast Count = 16
Mold Count = 4

This Petrifilm YM Plate contains both yeast colonies and mold colonies.



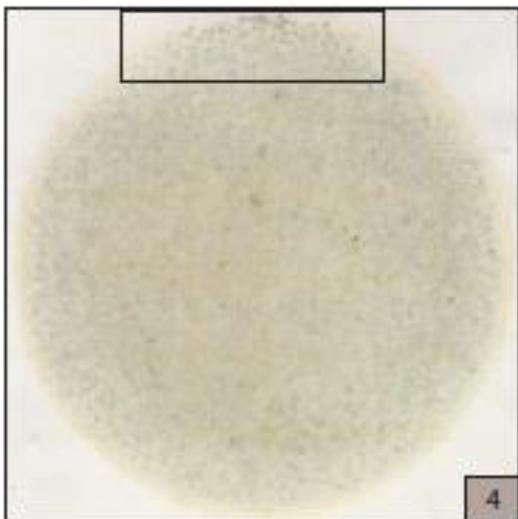
Yeast and Mold Count - 0

Figure 2 shows a Petrifilm YM Plate without yeast or molds.



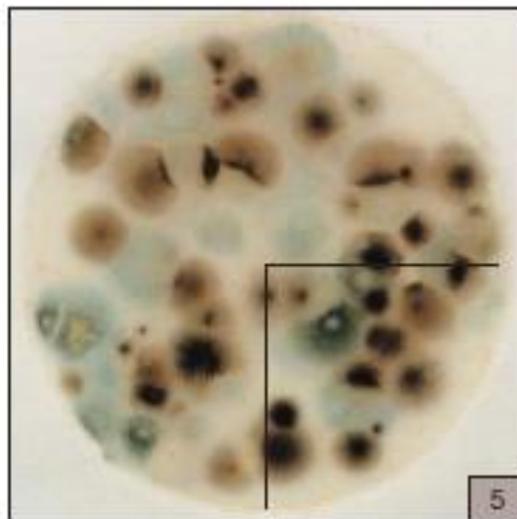
Estimated Total Count - 500
Estimated Yeast Count - 480
Mold Count - 21

When colonies number more than 150, estimate the count. Determine the average number of colonies in one square (1 cm²) and multiply it by 30 to obtain the total count per plate. The inoculated area is approximately 30 cm². Yeast colonies may range in color from tan (as in this example) to pink to blue-green.



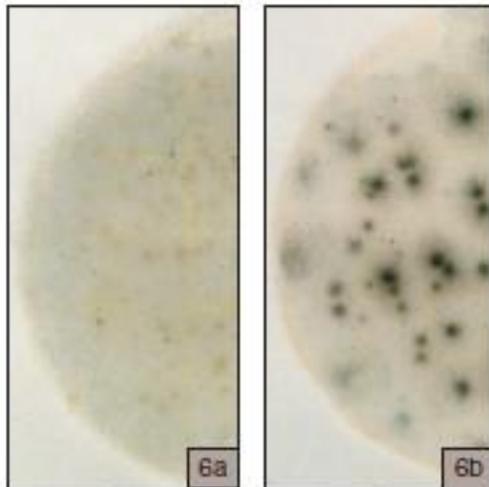
Estimated Yeast Count - TNTC (actual count >10⁶)

The Petrifilm YM Plate in figure 4 contains yeast colonies too numerous to count (TNTC). The small, blue colonies at the edge of the plate (highlighted in the box) are present throughout the entire plate although less visible.



Estimated Mold Count - 64

The mold colonies in figure 5 are beginning to crowd and overlap each other on the plate. Count each colony margin or focus. The plate can be divided into sections to assist in counting. In this example, approximately 1/4 of the plate was counted, then the number of colonies counted was multiplied by 4 to get the estimated count on the plate. The section shown has 16 molds.



Mold Count - TNTC

Mold Count = 64

Plates in figures 6a and 6b are the same sample. Figure 6a is a 1:10 dilution and has colonies that are small, faint and numerous, making it difficult to count. Figure 6b is a 1:100 dilution and shows how diluting product to obtain a colony count of less than 150 colonies makes counting easier. As with most growth media, in a highly competitive environment (such as figure 6a), typical colony growth will be inhibited. For heavily contaminated samples such as these, higher dilutions are recommended for a more accurate count and more typical colony growth (as in figure 6b).

PHOSPHATASE REACTION



Yeast and Mold Count = 0



Yeast and Mold Count = 0

Petrifilm YM Plates utilize a phosphatase indicator dye. Therefore, some food products that contain phosphatase may cause a blue color reaction to occur on the Petrifilm YM Plate. Two types of color reactions are sometimes seen: a uniform blue background color or intense, blue spots. Figure 7 shows uniform blue background color and figure 8 shows intense blue spots which are often seen with spices or granulated products. Figure 8 also shows food particles that yielded phosphatase.

To reduce a phosphatase reaction, follow one or more of these techniques:

1. **Dilute Sample:** Further sample dilution will minimize blue background color or reduce the number of intense blue spots.
2. **Sample Preparation:** Mix sample and let settle for 3-5 minutes before plating. Draw sample from center portion of sample container or use filtered homogenizer bag to avoid plating large particles.
3. **Check and Note:** Observe plates within 24-36 hours of incubation and make note of any color change to aid in final interpretation.

3M Petrifilm™ Yeast & Mold Count Plates

Reminders for Use

For detailed WARNINGS, CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see Product's package insert.

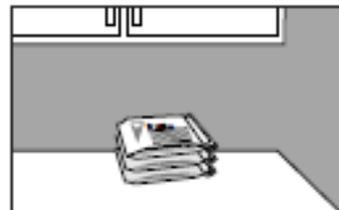
Storage



- 1 Store unopened Petrifilm plate pouches at $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Use before expiration date on pouch. Just prior to use, allow frozen plates to reach room temperature before opening. For further information, refer to package insert.



- 2 To seal opened pouch, fold end over and tape shut.



- 3 To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches. Store resealed pouches in a cool, dry place for no longer than one month. Avoid exposing plates to temperature $> 25^{\circ}\text{C}$ ($> 77^{\circ}\text{F}$) and/or relative humidity $> 50\%$.

Sample Preparation



- 4 Prepare dilution of food product. Weigh or pipette food product into a sterile container such as a homogenizer bag or dilution bottle.



- 5 Add appropriate quantity of one of the following sterile diluents: Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, KH_2PO_4 @ 0.0425 g/L , adjust to pH 7.2), 0.1% peptone water, peptone salt diluent (ISO method 6887-1), saline solution (0.85–0.90%), bisulfite-free lothoen broth or distilled water.

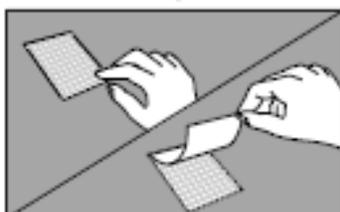
Do not use buffers containing citrate, bisulfite, or thiosulfate; they can inhibit growth. If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to $40\text{--}45^{\circ}\text{C}$.



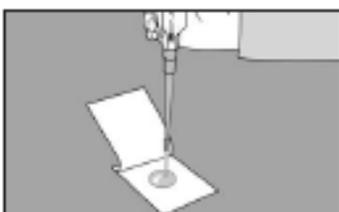
- 6 Blend or homogenize sample per current procedure.

Samples do not require pH adjustment, however a pH adjusted sample may be used.

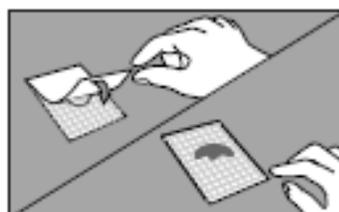
Inoculation



- 7 Place Petrifilm plate on a level surface. Lift top film.

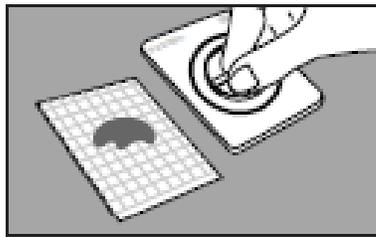


- 8 With 3M™ Electronic Pipettor or equivalent perpendicular to Petrifilm plate, place 1 mL of sample or diluted sample onto center of bottom film.

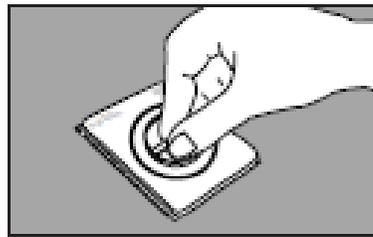


- 9 Drop the top film down onto the sample.

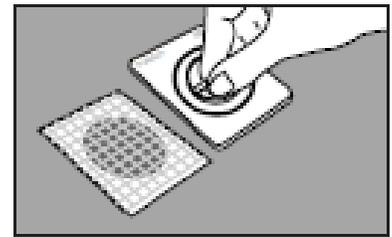
Continued - over



10 Place the Petrifilm Yeast and Mold spreader on the center of the plate.

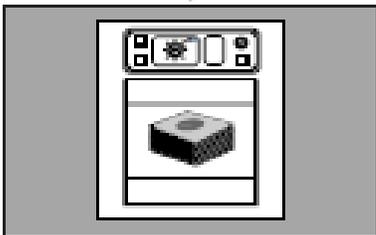


11 Distribute the sample with a gentle downward pressure on the center of the spreader. Do not twist or slide the spreader.



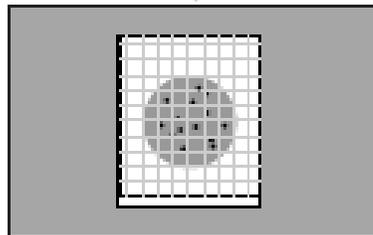
12 Lift spreader. Wait at least one minute to permit the gel to solidify.

Incubation



13 Incubate plates with clear side up in stacks of up to 20 at 20-25° C for 3 and 5 days. (Because some molds may grow large quickly, it can be useful to read and count plates at 3 days as smaller colonies may be obscured by larger, overgrown molds at 5 days. If this happens, the 3 day count may be used; however, it should be reported as an estimated count.)

Interpretation



14 Petrifilm plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier.

Methods List:

• United States

* Yeast and Mold Counts in Foods:
AOAC Official Method 997.02

• Canada

* Environmental Sampling:
Yeast and Mold Count Plates
Method MFLP-41A

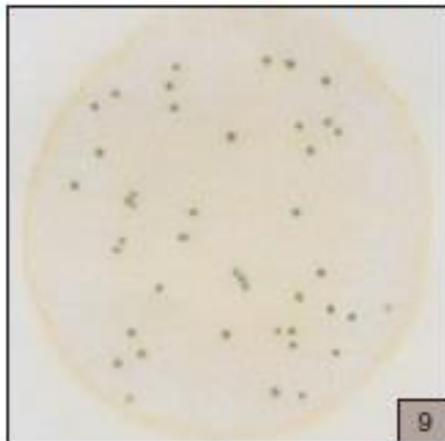
* Food Products and Ingredients:
Yeast and Mold Count Plates
Method MFHPB-02

Additional Comments

- Questions? U.S., call 1-800-328-6553.
- To order Petrifilm plates in the U.S., call 1-800-328-1671.
- 3M Microbiology offers a full line of products to accomplish a variety of your microbial testing needs. For more product information, visit us at www.3M.com/microbiology.
- For all other regions, please see back page.

Macroscopic Differentiation

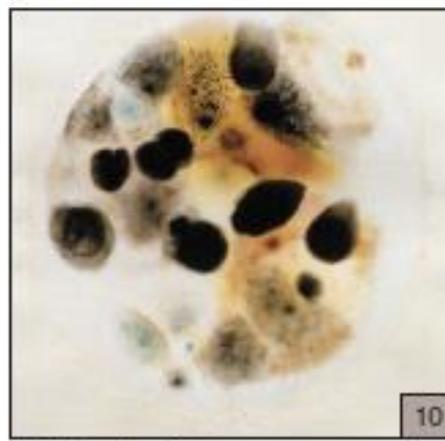
If it is necessary to differentiate yeast and mold colonies on Petrifilm Yeast and Mold Plates, look for one or more of the following typical characteristics mentioned below.



Yeast Count = 43

Figure 9 shows typical yeast colonies. Characteristics typical of yeast include:

- Colony is small
- Colony has defined edges
- Colony color can range from tan to blue-green
- Colony may appear raised
- Colony typically is uniform in color, no center focus (dark center)



Mold Count = 29

Figure 10 shows typical mold colonies. Characteristics typical of mold include:

- Colony grows large
- Colony has diffuse edges
- Colony color may vary as molds produce a variety of pigments (i.e., brown, beige, orange, blue-green)
- Colony appears flat
- Colony usually has a center focus (i.e. usually darker in color, may also be different color)

Microscopic Differentiation

Yeasts and molds are closely related and cannot always be distinguished from each other without microscopic examination.

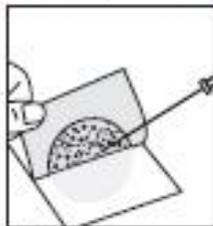


Figure 11
To isolate colonies for further identification, lift the top film and pick from the colony within the gel using a loop or similar device.

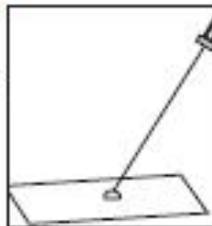


Figure 12
Transfer the colony to a drop of sterile water on a microscope slide, cover with a coverslip, and view under a microscope.



Figure 13
Yeast typically appear oval and may show budding.



Figure 14
Mold typically appear as branching or thread-like filaments (mycelium).



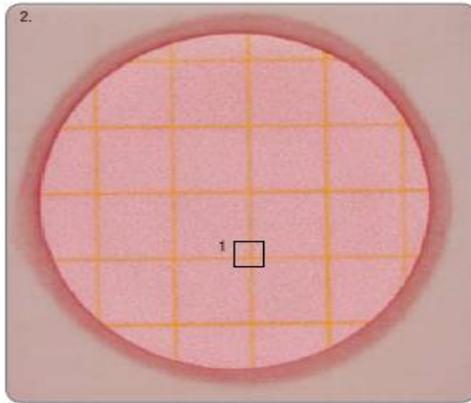
Figure 15
Molds shown above are in various stages of germination.

3M

9.2.3. Coliformes y *E.coli*

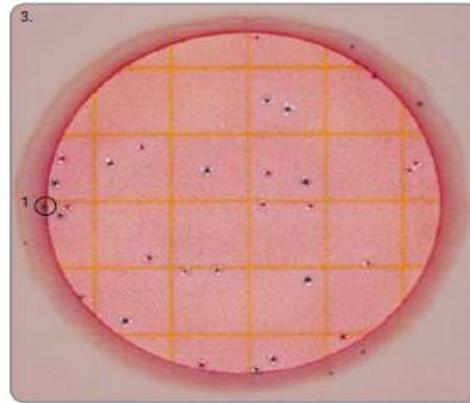
3M™ Petrifilm™ E. coli and Coliform Count Plates

Notice the change in gel colour in figures 2 through 8. As the *E. coli* or Coliform count increases, the colour of the gel turns to dark red or purple-blue.



No growth
***E. coli* count = 0**

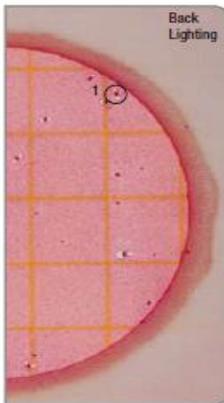
Background bubbles are a characteristic of the gel and are not a result of *E. coli* or Coliform growth. Background gas bubbles are small to pin-point in size, regular in shape and do not have a colony associated with them. See Square 1.



***E. coli* count = 13**
Gas producing Coliforms count = 28

As with VRB agar plates, the preferable counting range (total colony population) on Petrifilm EC plates is 15 - 150.

Do not count colonies that appear on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium. See Circle 1.

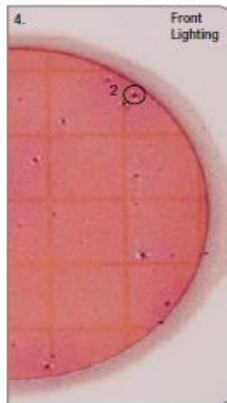


***E. coli* count = 3**

Any blue in a colony (blue to red-blue) indicates the presence of *E. coli*. Front lighting may enhance the detection of blue precipitate formed by a colony.

- Circle 1 shows a red-blue colony using back lighting.
- Circle 2 shows the same colony with front lighting.

The blue precipitate is more evident in this case.

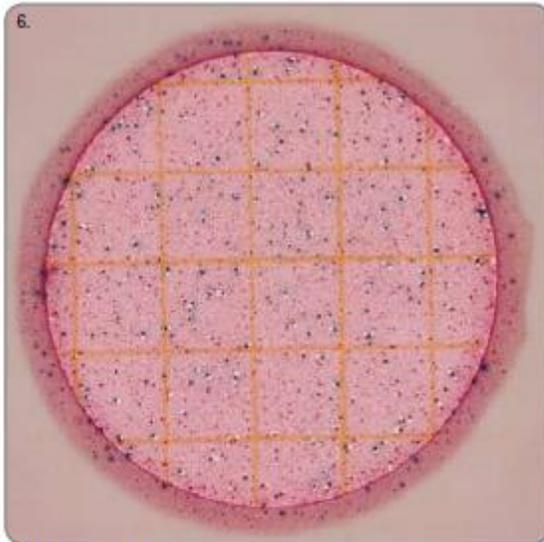


***E. coli* count = 20**
Estimated total count = 150

The Petrifilm EC plate circular growth area is approximately 20 cm². Estimates can be made on plates containing greater than 150 colonies by counting the number of colonies in one or more representative squares and determining the average number per square. Multiply the average number by 20 to determine the estimated count per Petrifilm EC plate.

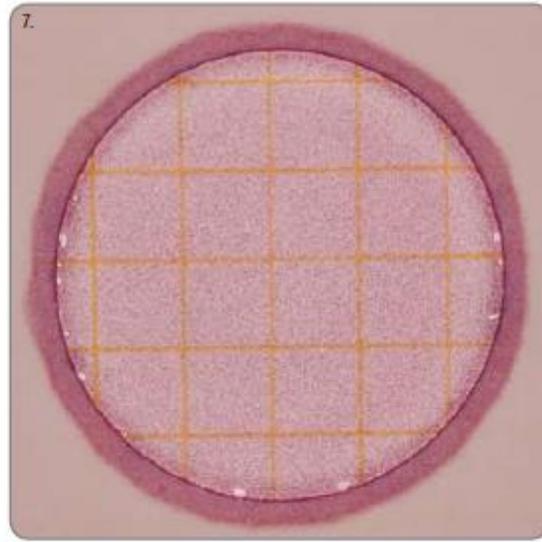
TNTC (Too Numerous To Count) plates

To obtain an accurate count, dilute the sample further.



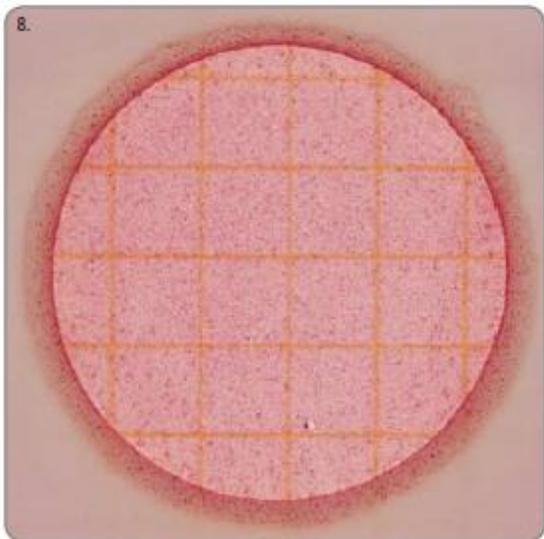
Actual count - 10^6

Petrifilm EC plates with colonies that are TNTC have one or more of the following characteristics: many small colonies, many gas bubbles, and a deepening of the gel colour from red to purple-blue.



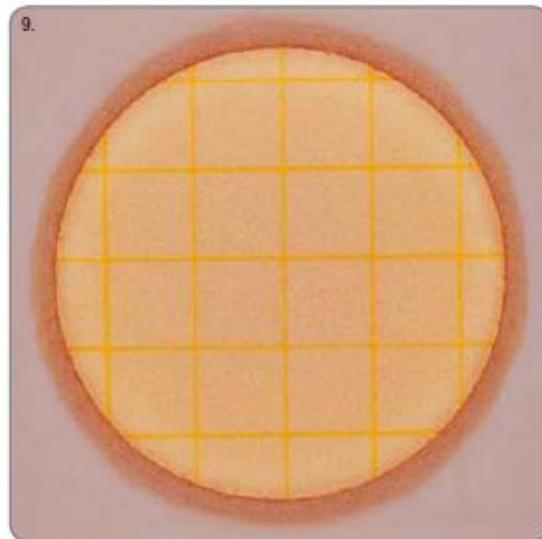
Actual count - 10^6

High concentrations of *E. coli* will cause the growth area to turn purple-blue.



Actual count - 10^6

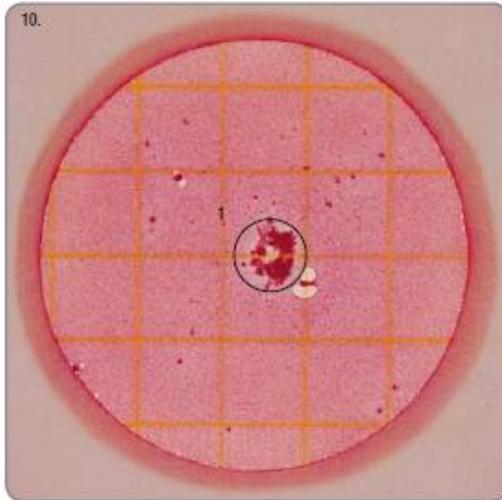
High concentrations of Coliforms (non *E. coli*) will cause the growth area to turn dark red. Additional dilutions are required to determine if *E. coli* are present.



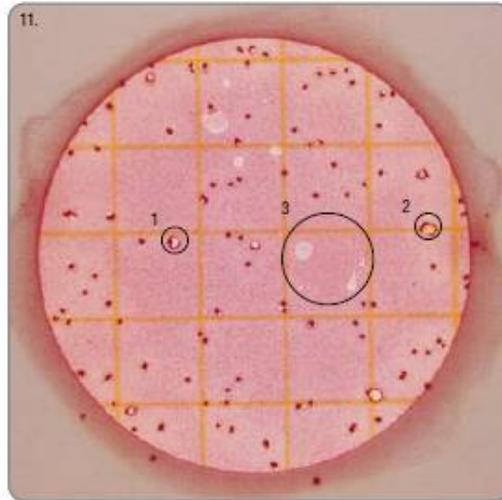
Actual count - 10^6

When high numbers of non-Coliforms organisms such as *Pseudomonas* are present on Petrifilm EC plates, the gel may turn yellow.

Bubbles



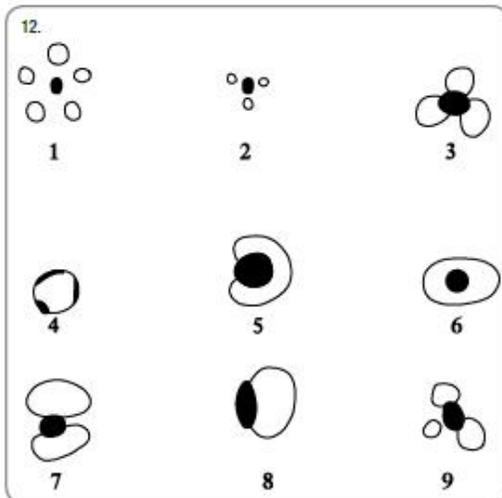
10. Food particles are irregularly shaped and are not associated with gas bubbles. See Circle 1.



11. Figure 11 shows how bubble patterns may vary. Sometimes gas disrupts the colony so that the colony "outlines" the bubble. See Circles 1 and 2.

Artifact bubbles may result from improper inoculation of the Petrifilm EC plate or from trapped air within the sample. They are irregularly shaped and are not associated with a colony. See Circle 3.

Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium.



12. The following are additional examples of various bubble patterns associated with a colony. All of them should be taken into account.

3M™ Petrifilm™ E. coli and Coliform Count Plates

For detailed WARNINGS, CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see product's package insert.

Reminders
for Use



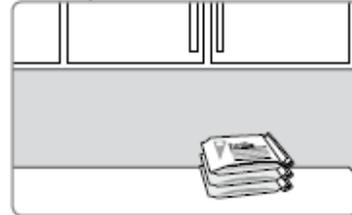
Storage



1 Store unopened packages at $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Use before expiration date on package.



2 To seal opened package, fold end over and tape shut.



3 Keep resealed package at $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ($\leq 77^{\circ}\text{F}$) and $\leq 50\%$ RH. **Do not refrigerate opened packages.** Use Petrifilm plates within one month after opening.

Sample Preparation



4 Weigh or pipette food product into an appropriate sterile container such as stomacher bag, dilution bottle, Whirl-Pak® bag, or other sterile container.



5 Add appropriate quantity of one of the following sterile diluents: Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, KH_2PO_4 , at 0.0425g/L, adjust pH to 7.2), 0.1% peptone water, peptone salt diluent (ISO method 6887), saline solution (0.85 - 0.90%), or distilled water.

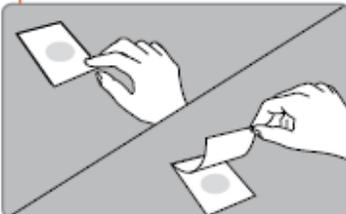


6 Blend or homogenize sample as per current procedure.

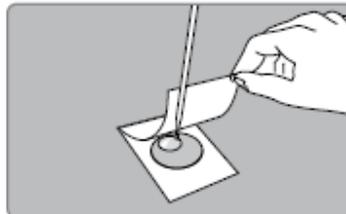
Do not use buffers containing citrate, bisulfite or thiosulfate. Adjust pH of the diluted sample between 6.6 and 7.2:

- for acidic products, use NaOH 1N,
- for alkaline products, use HCl 1N.

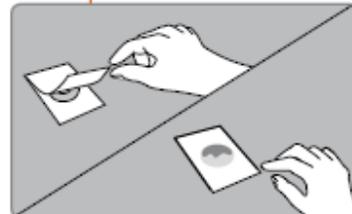
Inoculation



7 Place Petrifilm plate on level surface. Lift top film.

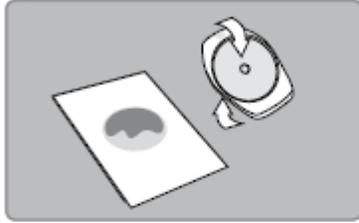


8 With pipette **perpendicular** to Petrifilm plate, place 1mL of sample onto center of bottom film.

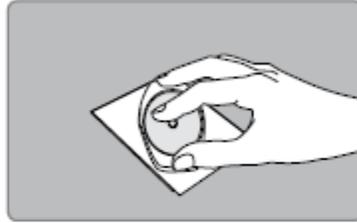


9 **Carefully roll** top film down to avoid trapping air bubbles. **Do not** let top film drop.

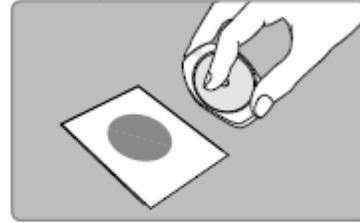
Inoculation



10 With flat side down, place spreader on top film over inoculum.

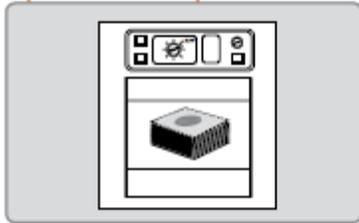


11 Gently apply pressure on spreader to distribute over circular area. Do not twist or slide the spreader.



12 Lift spreader. Wait at least one minute for gel to solidify.

Incubation

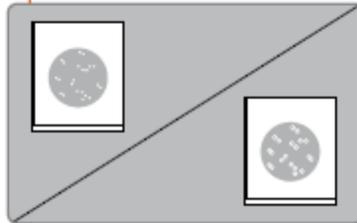


13 Incubate plates with clear side up in stacks of up to 20. Incubation time and temperature vary by method*.

Most common approved methods:

- AOAC Official Method 991.14 : for coliforms, incubate $24\text{h} \pm 2\text{h}$ at $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; for *E. coli*, incubate $48\text{h} \pm 2\text{h}$ at $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
 - AOAC Official Method 998.08 : for *E. coli* in Meat, Poultry and Seafood, and Coliforms in all foods, incubate $24\text{h} \pm 2\text{h}$ at $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
 - NORDVAL approved method (certificate n° 14) : for Coliforms, incubate $24\text{h} \pm 2\text{h}$ at $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; for *E. coli*, incubate $48\text{h} \pm 2\text{h}$ at $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
- * See product's package insert.

Interpretation



14 Petrifilm plates can be counted with a standard colony counter or other magnifier. Refer to the Interpretation Guide section when reading results.



15 Colonies may be isolated for further identification. Lift top film and pick the colony from the gel.

Additional Comments

- Remember to inoculate and spread each Petrifilm plate before going on to the next plate.
- Incubation time and temperature vary by method, see product's package insert.

