

## Efecto de ozono gaseoso sobre la calidad microbiológica y la vida útil de rúcula cortada mínimamente procesada

Gutiérrez, Diego R. 1,2, Lemos Laura 1,2, Farías, Mariana 1,2 y Rodríguez, Silvia del C. 1,2

(1) Grupo Conservación de Alimentos Vegetales-CIBAAL-CONICET-UNSE. RN 9 Km 1125. El Zanjón. (CP 4206) - Santiago del Estero. Argentina.

(2) ICyTA. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Santiago del Estero-Argentina.

diegorgutierrez@hotmail.com

### RESUMEN

En este trabajo se estudió el efecto de la aplicación de tratamientos con ozono gaseoso (1, 2, 5 y 10 ppm) sobre el crecimiento microbiano y parámetros de calidad de las hojas de rúcula (*Eruca Sativa* Mill.) cortada mínimamente procesada durante 12 días a 5 °C. Como control, muestras fueron lavadas con agua. Se estudiaron los atributos sensoriales (apariencia general, color y olor), intensidad respiratoria y la composición interna de gases en el envase, algunas características químicas tales como la clorofila a y b, clorofila total y carotenoides totales, y los recuentos microbianos a lo largo de la vida útil. Los tratamientos con O<sub>3</sub> hasta concentraciones de 5 ppm, mantuvieron una buena calidad sensorial y no influyeron significativamente en los diferentes parámetros de calidad estudiados, y fueron efectivos en reducir significativamente la carga microbiana de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos, de enterobacterias, así como de hongos y levaduras en rúcula cortada, hasta los 8 días de almacenamiento a 5 °C. Se recomienda aplicar el tratamiento con 2 ppm para la conservación poscosecha de rúcula cortada mínimamente procesada, ya que la concentración de 5 ppm no aportó un efecto adicional en la conservación y seguridad microbiológica del producto.

### ABSTRACT

In this work, the effect of the application of treatments with gaseous ozone (1, 2, 5 and 10 ppm) on the microbial growth and quality parameters of fresh-cut rocket leaves minimally processed (*Eruca Sativa* Mill.) during 12 days at 5 °C were studied. As a control, samples were washed with water. Sensory attributes (general appearance, color and odor), respiratory intensity and headspace gas composition, some chemical characteristics such as chlorophyll a and b, total chlorophyll and total carotenoids, and the microbial counts throughout shelf-life were studied. The treatments with O<sub>3</sub> up to concentrations of 5 ppm, maintained good sensory quality and did not significantly influence the different quality parameters studied, and were effective in significantly reducing the microbial load of mesophilic and psychrophilic microorganisms, of enterobacteria as well as fungi and yeasts in cut rocket, up to 8 days of storage at 5 °C. The treatment with 2 ppm was selected for the postharvest conservation of fresh-cut rocket leaves minimally processed, since the concentration of 5 ppm did not provide an additional effect on the conservation and microbiological safety of the product.

Palabras clave: ozono, conservación, calidad, rúcula.

Keywords: ozone, conservation, quality, rocket.

## 1 INTRODUCCIÓN

Los vegetales recién cortados o mínimamente procesados son componentes importantes de la dieta humana y en los últimos años la demanda de estos se ha incrementado significativamente en los consumidores por un mayor interés en dietas saludables y nutritivas (Fagundes et al., 2015; Torales et al., 2020). Durante la preparación de estos vegetales se llevan a cabo tales como pelado, cortado y rebanado, que dan como resultado tejidos dañados que provocan reacciones adversas que incluyen el desarrollo de olores no característicos, sabores desagradables, la decoloración y el ablandamiento de los tejidos (Artés-Hernández et al., 2009). La rúcula (*Eruca sativa*) es ampliamente consumida como ensalada fresca o como parte de ensaladas mixtas en los países mediterráneos y también en Argentina y se distingue por su sabor único y ligeramente picante (Char et al., 2012). Su principal problema es la rápida senescencia que se manifiesta principalmente por el amarillamiento de sus hojas debido a la degradación de la clorofila (Gutiérrez et al., 2018). Con el fin de ofrecer vegetales seguros de alta calidad y para hacer frente a la demanda de los consumidores, los procesadores de alimentos deben aplicar técnicas eficientes de saneamiento (Artés et al., 2009). Durante los últimos años, la sanitización de alimentos utilizando ozono (O<sub>3</sub>) gana cada vez más la atención de la industria (Ong et al., 2014) debido a sus propiedades antimicrobianas contra bacterias, hongos, virus y también esporas bacterianas y fúngicas. El ozono, u oxígeno triatómico, se produce de forma natural a partir del oxígeno como resultado de la interacción de rayos o luz ultravioleta (Gutiérrez et al., 2016). El ozono (aprobado por US-FDA, 2001 para aplicación en alimentos) se descompone rápidamente en oxígeno y no deja residuos tóxicos, lo que lo hace atractivo y útil para la industria alimentaria (Karaca y Velioglu, 2014; Gutiérrez et al., 2019). Se han realizado varios estudios sobre la capacidad antimicrobiana del ozono y sus efectos sobre la calidad de diferentes productos como espárragos (Pretell-Vásquez et al., 2000), lechuga y espinaca (Karaca y Velioglu, 2014). El uso del ozono en la conservación poscosecha de hortalizas está creciendo actualmente, y su correcta aplicación puede retrasar la senescencia y extender la vida útil de cierto tipo de hortalizas como brócoli, lechuga y repollo (Aziz y Ding, 2018). Además, otros estudios demostraron que el ozono gaseoso puede tener un efecto positivo sobre los cambios en el contenido de componentes antioxidantes, tales como los flavonoides y otros compuestos fenólicos (Gutiérrez et al., 2019). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de tratamientos con ozono gaseoso

sobre el crecimiento microbiano y parámetros de calidad de hojas de rúcula cortada mínimamente procesada durante su conservación refrigerada.

## 2 MATERIALES Y METODOS

### 2.1 Material vegetal

Las hojas de rúcula fueron cosechadas en el Departamento Capital de la provincia de Santiago del Estero, Argentina. Después de la cosecha, las hojas se transportaron al laboratorio donde fueron mínimamente procesadas, manteniendo la temperatura ambiente a 16 °C hasta el momento de su procesamiento. 2.1 Preparación de las muestras, tratamientos y condiciones de almacenamiento Las hojas que presentaban defectos como daños físicos, amarillamiento o deshidratadas fueron desechadas. Posteriormente, las hojas seleccionadas fueron lavadas con agua potable durante 1 min y drenadas sobre una malla de acero inoxidable. Luego se cortaron en tiras de 20 mm y se lavaron nuevamente por 2 min a 5 °C. A continuación, se escurrieron usando una centrifuga manual y luego se acomodaron en bandejas de polipropileno con 60 g de producto y posteriormente se aplicaron los siguientes tratamientos. La preparación de las muestras se realizó de acuerdo a Gutiérrez et al. (2018). T1 (Control): se prepararon bandejas con rúcula no tratada y fueron almacenadas bajo una AMP como se describe posteriormente. T2 (1 ppm): en este tratamiento las bandejas con rúcula cortada, se acomodaron dentro de la cámara de ozono y se sometieron a una concentración de 1 ppm de O<sub>3</sub> gaseoso por 10 min. Posteriormente las bandejas con las hojas cortadas refrigeradas bajo una AMP como se describe luego. T3 (2 ppm): este tratamiento fue el mismo que T2 pero la concentración de ozono fue de 2 ppm por 10 min. T4 (5 ppm): este tratamiento fue el mismo que T2 pero la concentración de ozono fue de 5 ppm por 10 min. T5 (10 ppm): este tratamiento fue el mismo que T2 pero la concentración de ozono fue de 10 ppm por 10 min. Para realizar los tratamientos con O<sub>3</sub>, se utilizó un generador de descarga tipo corona (Generador de Ozono Bio3 Modelo: TDZ-1, Uruguay) con una capacidad de producción de 1 g h<sup>-1</sup> de ozono, usando el aire como fuente de oxígeno. Este equipo utilizado fue descrito detalladamente en Gutiérrez et al. (2016). Para generar la atmosfera modificada pasiva (AMP), las bandejas fueron recubiertas con el film de polipropileno (PP) de 35 µm de espesor y selladas. Las velocidades de transmisión de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> a 25 °C y 90 % de humedad relativa de PP fueron: 5000 mL O<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> 24h<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup> y 18.000 mL CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> 24h<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup> y la velocidad de transmisión al

vapor de agua fue 110 g m<sup>-2</sup> 24h<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup> (datos proporcionados por INTI, Argentina). Todas las muestras se conservaron durante 12 días a 5 °C. En los días 1, 4, 8 y 12 de almacenamiento se extrajeron al menos 3 bandejas de cada tratamiento para estudiar la evolución de los diferentes parámetros.

### 2.2 Intensidad respiratoria y composición interna de gases en el envase

La intensidad respiratoria (IR) de las muestras se determinó a 5 °C mediante el uso de un sistema cerrado hermético y provisto de un septum para extracción de muestras. Para ello 20 g de hojas se colocaron en frascos de vidrio de 500 mL, por triplicado. Las variaciones de CO<sub>2</sub> fueron registradas a partir de 1 h después de cerrar los frascos. Se tomaron muestras de 1 mL de gas del espacio de cabeza de los frascos con una jeringa hermética y se analizaron en un cromatógrafo de gases (SRI 8610C, EE.UU), equipado con un detector de conductividad térmica (150 °C), la temperatura del horno fue de 80 °C y la del inyector de 150 °C. Se utilizó una columna Poropack-Q 80/100 (Waters, España) y He (20 mL min<sup>-1</sup>) como gas carrier. En cada tiempo de muestreo, se midieron las concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> utilizando un analizador portátil de gases de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca), tomando para ello 15 mL del espacio de cabeza de cada muestra, a través de un septum (parche sellador de silicona adherido a la película), utilizando la aguja del sensor. Tres envases de cada tratamiento se midieron en cada día de muestreo, inmediatamente a la salida de la cámara (5°C).

### 2.3 Análisis Sensorial

Un panel entrenado de ocho miembros realizó la evaluación sensorial de las muestras utilizando una escala de 9 puntos para la apariencia general, donde: 9 = excelente, 7 = bueno, 5 = aceptable (límite de aceptabilidad), 3 = pobre y 1 = extremadamente pobre. El color y el olor se evaluaron mediante una escala de 5 puntos, correspondiendo para el primero, 5 (verde) a 1 (amarillo), mientras que para el segundo, 5 (fresco o propio característico) a 1 (olores extraños intensos), siendo el límite establecido para la comercialización el valor de 3, como lo indica Gutiérrez et al. (2016).

### 2.4 Concentración de clorofila y carotenoides

Para la determinación de clorofila se trituró 0,4 g de muestra con 15 mL de acetona: agua (80:20, v/v), y se centrifugó a 12.000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se utilizó para determinar la concentración total de clorofila, la clorofila a y b, y los carotenoides totales según Lichtenthaler (1987). La absorbancia (A) a 663.2, 646.8 y 470 nm se midió utilizando un espectrofotómetro UV-Visible

(JASCO V-630). Las ecuaciones desarrolladas por Lichtenthaler (1987) se utilizaron para determinar los niveles individuales de clorofila a ( $Ca = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$ ), clorofila b ( $Cb = 521.5 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$ ), donde la clorofila total fue calculada como  $(Ca + Cb)$  y carotenoides totales [ $Cx+c = (1000 A_{470} - 1.82 Ca - 85.02 Cb)/198$ ]. El contenido de clorofila y carotenoides se expresaron como mg/100 g tejido fresco.

### 2.5 Análisis microbiológicos

La determinación de los recuentos microbianos (mesófilos, psicrótrófos, enterobacterias, hongos y levaduras) se realizaron de acuerdo a Gutiérrez et al. (2016). Muestras de 10 g de cada bandeja se colocaron en una bolsa estéril, y se les adicionó 90 mL de agua peptona tamponada estéril y se homogenizó en equipo Stomacher por 5 min. Luego se diluyó 1 mL de esta disolución en 9 mL de agua estéril y así sucesivamente, según las diluciones que fueran necesarias. Para determinar el recuento de mesófilos aeróbicos, se diseminaron 100 µL de la muestra diluida en agar de conteo en placa (APC) y se incubaron a 37 °C durante 2 días, y a 6 °C durante 7 días para el recuento de psicrófilos aeróbicos. Para el recuento de enterobacterias se utilizó el medio eosina de agar azul de metileno (EMB) y 37 °C para la incubación de las placas durante 2 días; en el caso del recuento de hongos y levaduras, se utilizó el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) con una temperatura de incubación de 25 °C durante 7 días. Los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de tejido fresco (log UFC/g).

### 2.6 Análisis estadístico de los datos

Los resultados fueron analizados por medio de Análisis de Varianza (ANOVA) usando el Infostat Versión 2011 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Todos los ensayos fueron realizados por lo menos tres veces. Las medias se compararon por la prueba de diferencias mínima significativa (DMS) a un nivel de significancia de 0,05.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSION

### 3.1. Intensidad respiratoria y composición interna de gases en los envases

En el día de procesamiento, el control presentó un incremento significativo (20%) en comparación con las muestras tratadas con ozono (Fig. 1). Luego, en el primer día de almacenamiento, se observó una disminución significativa (55-75%) de la IR en

todas las muestras. Posteriormente este parámetro se mantuvo prácticamente constante ( $p > 0.05$ ) hasta los 12 días, no detectándose diferencias significativas entre las muestras tratadas con ozono y el control durante el almacenamiento. Nuestros resultados indican que el tratamiento con ozono no indujo un aumento de la intensidad respiratoria, y concuerdan con los reportados por Ong et al. (2014), quienes informaron que papaya tratada con concentraciones de O<sub>3</sub> menores a 5 µL/L, presentó IR más lento con respecto al control. De manera similar a estos resultados, tratamientos de inmersión en agua ozonizada de 0,8 mg L<sup>-1</sup> por 30 s y 20 mg L<sup>-1</sup> no afectaron la respiración de lechuga y espinaca recién cortada, respectivamente (Beltrán et al., 2005; Papachristodoulou et al., 2018).

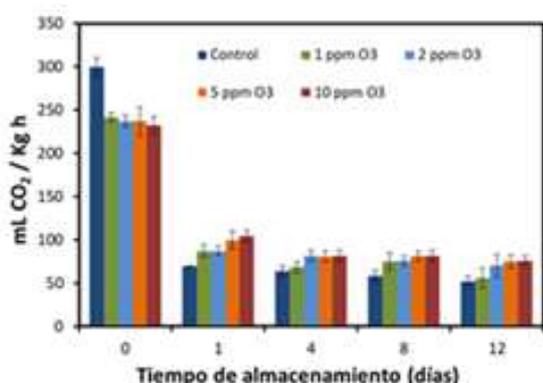


Figura 1. Evolución de la intensidad respiratoria de hojas cortadas de rúcula sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O<sub>3</sub> almacenadas a 5 °C durante 12 días.

Los cambios en las presiones parciales de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en el interior de los envases durante el almacenamiento a 5 °C se presentan en la Fig. 2. La rúcula luego de procesada, se almacenó en una atmosfera modificada pasiva y por lo tanto la composición inicial del gas fue 20,9 kPa O<sub>2</sub> y 0,03 kPa CO<sub>2</sub>. Debido a la respiración de las hojas y a la permeabilidad del film, los niveles de O<sub>2</sub> disminuyeron y los niveles de CO<sub>2</sub> aumentaron en todas las bandejas durante la conservación. Al primer día de almacenamiento, la concentración de O<sub>2</sub> disminuyó, alcanzando niveles entre 16 y 18 kPa y la del CO<sub>2</sub> aumentó hasta el rango de 3 a 4 kPa para todos los tratamientos, y estos valores se mantuvieron estables hasta los 12 días. No se encontraron diferencias significativas entre el control y las muestras ozonizadas durante la conservación a 5 °C. Nuestros resultados están de acuerdo con lo reportado por Ólmez y Akbas (2009), quienes informaron que lechuga tratada con agua ozonizada (2 ppm) no presentaron diferencias significativas con respecto al control en la composición de gases durante los 12 días de almacenamiento a 4 °C.

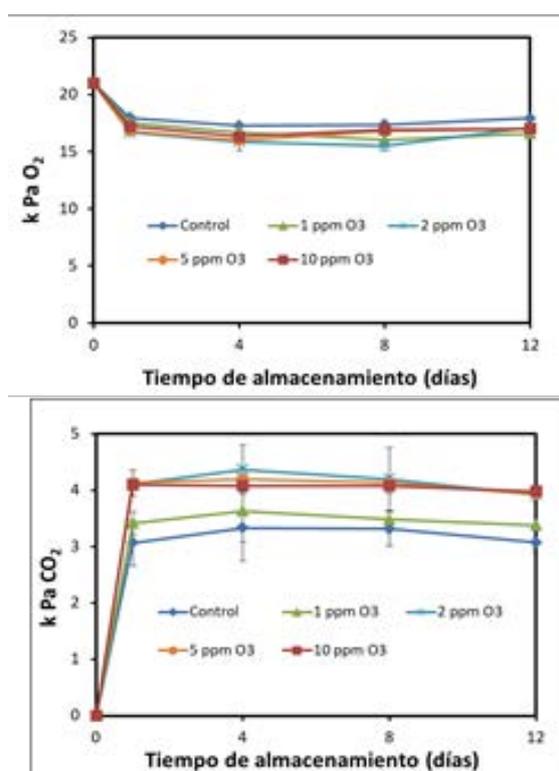


Figura 2. Evolución de la composición de gases en el interior de los envases de hojas de rúcula cortada sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O<sub>3</sub> almacenadas a 5 °C durante 12 días.

### 3.2 Análisis sensorial

En general, todas las muestras presentaron una disminución significativa de los atributos de calidad sensorial evaluados durante el almacenamiento. La apariencia general y color presentaron valores superiores al límite de aceptación para su comercialización durante los 12 días a 5 °C (Fig. 3), y al final del almacenamiento no se encontraron diferencias significativas entre las muestras tratadas con O<sub>3</sub> y el control. Al evaluarse el atributo de olor, se registró una disminución durante el almacenamiento para todos los tratamientos, presentando valores superiores al límite previamente establecido, con excepción del tratamiento con 10 ppm, que en el día 8 presentó valores de aproximadamente 3. Al cabo de los 12 días, no se observaron diferencias significativas entre el control y las muestras tratadas con 5 ppm O<sub>3</sub>, mientras que el tratamiento con 10 ppm O<sub>3</sub> presentó un puntaje por debajo del límite de aceptabilidad.

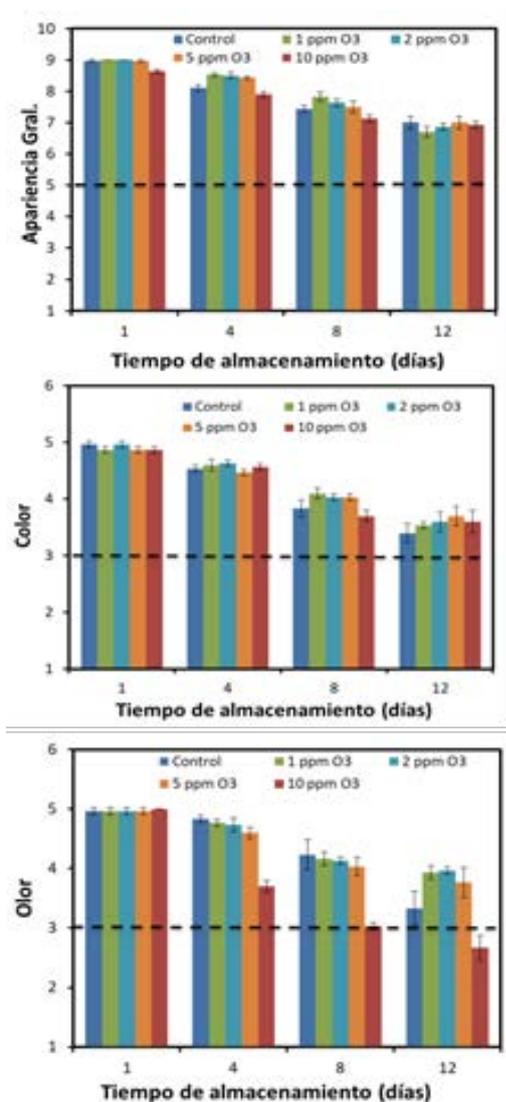


Figura 3. Evolución de los atributos sensoriales de hojas de rúcula cortada sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O<sub>3</sub> almacenadas a 5 °C durante 12 días. La línea horizontal indica el límite de aceptación por el consumidor.

Nuestros resultados están de acuerdo con Beltrán et al. (2005), quienes informaron que lechugas lavadas con agua ozonizada (10 y 20 mg L<sup>-1</sup>) y almacenadas en aire, mantuvieron una excelente calidad visual durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C sin diferencias significativas en comparación con la calidad visual inicial. También Ali et al. (2014), encontraron que frutas de papaya tratadas con diferentes concentraciones de O<sub>3</sub> (2.5 y 3.5 mg L<sup>-1</sup>) mostraron puntajes altos en los atributos sensoriales después de 12 días de almacenamiento a temperatura ambiente. De acuerdo a los atributos de calidad sensorial evaluados, la rúcula tratada con concentraciones de hasta 5 ppm O<sub>3</sub> conservó los atributos sensoriales por encima del límite de aceptabilidad durante 12 días, mientras que el tratamiento de 10 ppm O<sub>3</sub>

presentó una vida útil sensorial inferior a 8 días.

### 3.3 Concentración de clorofila y carotenoides

La concentración inicial de clorofila a, fue similar para todos los tratamientos, encontrándose en un rango entre 69,0 y 70,3 mg 100 g<sup>-1</sup> tej. fresco (Tabla 1). La concentración de esta clorofila disminuyó para todos los tratamientos hasta los 8 días (4-15%), con excepción de las concentraciones de 2 y 10 ppm que se mantuvieron sin variación durante la conservación a 5 °C. Al cabo de los 12 días, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre todos los tratamientos. Con respecto a la clorofila b, inicialmente presentaron concentraciones inferiores respecto de la clorofila a, encontrándose en un rango de 21,9-25,8 mg 100 g<sup>-1</sup> tej. fresco (Tabla 1). La evolución de la clorofila b, presentó un comportamiento similar a la clorofila a durante el almacenamiento, sin embargo al cabo de los 12 días, solo hubo diferencias significativas entre el control y las muestras ozonizadas con 10 ppm. En cuanto a la concentración inicial de clorofila total, se observó que todos los tratamientos presentaron valores similares en un rango entre 91,7 y 95,6 mg 100 g<sup>-1</sup> tej. fresco (Tabla 1). Posteriormente, la tendencia general fue de una disminución hasta los 8 días (5-14%) y luego se mantuvo constante para todos los tratamientos, con excepción de la concentración de 10 ppm que se mantuvo estable durante la conservación. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras tratadas y el control al cabo de los 12 días a 5 °C. Al evaluar el contenido de carotenoides, inicialmente no se registraron diferencias entre las muestras ozonizadas y el control, presentando valores en un rango de 20,5-24,3 mg 100 g<sup>-1</sup> tej. fresco (Tabla 1). Durante el almacenamiento, se observó que este parámetro presentó una evolución similar al de la clorofila, es decir una disminución en general hasta los 8 días (con excepción de los tratamientos de 2 y 10 ppm que no presentaron variaciones significativas) y luego se mantuvo hasta los 12 días. No encontrándose diferencias significativas entre todos los tratamientos al final de la conservación a 5 °C.

Tabla 1. Cambios en las concentraciones de clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenoides en hojas de rúcula cortada sin tratar y tratadas con ozono almacenadas a 5 °C durante 12 días.

Parámetros/concentración O <sub>3</sub>	Tiempo de almacenamiento a 5 °C			
	Día 1	Día 4	Día 8	Día 12
<b>Clorofila a (mg 100 g<sup>-1</sup> Tej. fresco)</b>				
Control	70,3 a <sup>A</sup>	67,6 a <sup>AB</sup>	61,1 a <sup>B</sup>	62,3 a <sup>B</sup>
1 ppm O <sub>3</sub>	69,0 a <sup>A</sup>	63,5 a <sup>B</sup>	61,6 a <sup>B</sup>	65,1 a <sup>AB</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	69,1 a <sup>A</sup>	61,9 a <sup>A</sup>	61,2 a <sup>A</sup>	64,8 a <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	69,4 a <sup>A</sup>	66,5 a <sup>AB</sup>	59,6 a <sup>B</sup>	61,2 a <sup>B</sup>
10 ppm O <sub>3</sub>	69,8 a <sup>A</sup>	64,8 a <sup>A</sup>	61,6 a <sup>A</sup>	61,3 a <sup>A</sup>
<b>Clorofila b (mg 100 g<sup>-1</sup> Tej. fresco)</b>				
Control	25,3 a <sup>A</sup>	20,7 a <sup>B</sup>	22,2 a <sup>AB</sup>	23,7 a <sup>AB</sup>
1 ppm O <sub>3</sub>	25,5 a <sup>A</sup>	21,3 a <sup>AB</sup>	22,4 a <sup>AB</sup>	19,8 bc <sup>B</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	23,9 a <sup>A</sup>	21,2 a <sup>A</sup>	21,6 a <sup>A</sup>	22,1 ab <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	22,6 a <sup>A</sup>	20,5 a <sup>AB</sup>	21,3 a <sup>AB</sup>	19,7 bc <sup>B</sup>
10 ppm O <sub>3</sub>	21,9 a <sup>A</sup>	20,1 a <sup>A</sup>	19,9 a <sup>A</sup>	18,2 c <sup>A</sup>
<b>Clorofila total (mg 100 g<sup>-1</sup> Tej. fresco)</b>				
Control	95,6 a <sup>A</sup>	88,2 a <sup>AB</sup>	83,3 a <sup>B</sup>	86,0 ab <sup>B</sup>
1 ppm O <sub>3</sub>	94,6 a <sup>A</sup>	84,8 a <sup>B</sup>	84,0 a <sup>B</sup>	84,9 ab <sup>B</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	93,0 a <sup>A</sup>	83,1 a <sup>B</sup>	82,9 a <sup>B</sup>	86,9 ab <sup>AB</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	92,0 a <sup>A</sup>	87,1 a <sup>AB</sup>	80,9 a <sup>B</sup>	81,0 ab <sup>B</sup>
10 ppm O <sub>3</sub>	91,7 a <sup>A</sup>	84,9 a <sup>A</sup>	81,5 a <sup>A</sup>	79,5 ab <sup>A</sup>
<b>Carotenoides totales (mg 100 g<sup>-1</sup> Tej. fresco)</b>				
Control	24,3 a <sup>A</sup>	20,5 a <sup>AB</sup>	17,8 a <sup>BC</sup>	16,9 a <sup>C</sup>
1 ppm O <sub>3</sub>	22,8 a <sup>A</sup>	19,0 a <sup>B</sup>	17,6 a <sup>B</sup>	18,2 a <sup>B</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	20,7 a <sup>A</sup>	18,7 a <sup>A</sup>	18,4 a <sup>A</sup>	18,2 a <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	21,2 a <sup>B</sup>	20,8 a <sup>AB</sup>	17,7 a <sup>C</sup>	18,5 a <sup>C</sup>
10 ppm O <sub>3</sub>	20,5 a <sup>A</sup>	19,4 a <sup>A</sup>	17,9 a <sup>A</sup>	18,9 a <sup>A</sup>

Los promedios en la misma fila con diferentes superíndices o en la misma columna con diferentes letras minúsculas fueron significativamente diferentes según test DMS a p < 0,05.

Estos datos están de acuerdo con lo reportado por Karaca y Velioglu (2014) quienes encontraron que la exposición al ozono gaseoso (0,95 ppm, 20 min) no causó cambios significativos en el contenido de clorofila en perejil (p > 0,05). Sin embargo, otros autores informaron que tratamientos con ozono causaron decoloraciones en lechuga (Olmez y Akbas, 2009) y espinacas (Klockow y Keener 2009).

### 3.4 Análisis microbiológico

De acuerdo a los resultados obtenidos, se seleccionaron las concentraciones de 2 y 5 ppm O<sub>3</sub> para evaluar el efecto sobre la carga microbiana del producto y se comparó también con el lavado tradicional con hipoclorito de sodio usado generalmente en las industrias de vegetales. Para ello, se prepararon muestras lavadas sólo con hipoclorito

de sodio (100 ppm; 2 min) (Gutiérrez et al., 2016).

Tabla 2. Cambios en mesófilos, psicrófilos, enterobacterias y mohos y levaduras (log UFC g<sup>-1</sup>) en hojas de rúcula cortadas sin tratar y tratadas con NaClO, 2 y 5 ppm O<sub>3</sub>, almacenadas a 5 °C durante 12 días.

	Tiempo de almacenamiento a 5 °C (días)			
	1	4	8	12
<b>Aerobios mesófilos totales (log UFC g<sup>-1</sup>)</b>				
Control	4,72 a <sup>C</sup>	5,09 a <sup>B</sup>	5,45 a <sup>A</sup>	5,55 a <sup>A</sup>
NaClO	3,98 b <sup>D</sup>	4,45 b <sup>C</sup>	5,02 b <sup>B</sup>	5,46 a <sup>A</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	3,74 c <sup>D</sup>	4,24 c <sup>C</sup>	4,77 c <sup>B</sup>	5,42 a <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	3,69 c <sup>D</sup>	4,17 c <sup>C</sup>	4,74 c <sup>B</sup>	5,35 a <sup>A</sup>
<b>Aerobios psicrófilos totales (log UFC g<sup>-1</sup>)</b>				
Control	6,12 a <sup>D</sup>	6,84 a <sup>C</sup>	7,51 a <sup>B</sup>	8,06 a <sup>A</sup>
NaClO	5,20 b <sup>D</sup>	6,30 b <sup>C</sup>	7,15 b <sup>B</sup>	7,89 a <sup>A</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	4,95 c <sup>D</sup>	6,05 c <sup>C</sup>	7,11 b <sup>B</sup>	7,70 b <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	4,92 c <sup>D</sup>	6,08 c <sup>C</sup>	7,13 b <sup>B</sup>	7,75 b <sup>A</sup>
<b>Enterobacterias (log UFC g<sup>-1</sup>)</b>				
Control	4,12 a <sup>C</sup>	4,38 a <sup>B</sup>	4,97 a <sup>A</sup>	5,22 a <sup>A</sup>
NaClO	3,50 b <sup>D</sup>	3,96 b <sup>C</sup>	4,56 b <sup>B</sup>	5,10 a <sup>A</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	3,27 c <sup>D</sup>	3,81 c <sup>C</sup>	4,27 c <sup>B</sup>	5,04 a <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	3,17 c <sup>D</sup>	3,79 c <sup>C</sup>	4,29 c <sup>B</sup>	5,01 a <sup>A</sup>
<b>Mohos y levaduras (log UFC g<sup>-1</sup>)</b>				
Control	4,49 a <sup>D</sup>	4,92 a <sup>C</sup>	5,54 a <sup>B</sup>	5,91 a <sup>A</sup>
NaClO	3,91 b <sup>D</sup>	4,49 b <sup>C</sup>	5,23 b <sup>B</sup>	5,76 a <sup>A</sup>
2 ppm O <sub>3</sub>	3,64 c <sup>D</sup>	4,29 c <sup>C</sup>	4,97 c <sup>B</sup>	5,69 a <sup>A</sup>
5 ppm O <sub>3</sub>	3,62 c <sup>D</sup>	4,27 c <sup>C</sup>	4,95 c <sup>B</sup>	5,66 a <sup>A</sup>

Los promedios en la misma fila con diferentes superíndices o en la misma columna con diferentes letras minúsculas fueron significativamente diferentes según test DMS a p < 0,05.

En el recuento de microorganismos mesófilos, el tratamiento con NaClO produjo una reducción inicial de 0,74 log UFC g<sup>-1</sup> con respecto al control, mientras que los tratamientos con 2 y 5 ppm O<sub>3</sub> promovieron una mayor reducción de 0,98 a 1,03 log UFC g<sup>-1</sup> respectivamente, sin encontrarse diferencias significativas entre las dos concentraciones de ozono (Tabla 2). Para el recuento de psicrófilos, el NaClO resultó en una reducción significativa de 0,92 log y las muestras tratadas con 2 y 5 ppm de ozono mostraron reducciones mayores de 1,17 y 1,20 log UFC g<sup>-1</sup> (Tabla 2). En cuanto a las enterobacterias, las muestras lavadas con NaClO presentaron una reducción significativa de 0,62 log y las tratadas con ozono mostraron reducciones de 0,85 a 0,95 log UFC g<sup>-1</sup> para las concentraciones de 2 y 5 ppm respectivamente (Tabla 2). En cuanto a mohos y levaduras, el NaClO presentó una reducción de 0,58 log UFC g<sup>-1</sup>, mientras que los tratamientos con 2 y 5 ppm O<sub>3</sub> presentaron una reducción de 0,85 y 0,87

log UFC g-1 respectivamente (Tabla 2). El efecto bacteriostático de los tratamientos se observó en todos los recuentos microbianos hasta los 8 días de almacenamiento a 5 °C. Sin embargo, al cabo de los 12 días no se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos incluyendo el control. Estos resultados coinciden con Olmez y Akbas (2009) quienes encontraron que los tratamientos con O<sub>3</sub> (2 ppm-2 min) en lechuga causaron una disminución en los recuentos de mesófilos, psicrotróficos y enterobacterias en aproximadamente 1.5, 1.1 y 1,5 log UFC/g, respectivamente. De acuerdo con nuestros resultados, la vida útil de las hojas de rúcula recién cortadas, se vio limitada por el desarrollo de microorganismos psicrófilos, ya que mantuvieron los recuentos por debajo de 7 log UFC/g que es el límite establecido por la legislación española (BOE, 2000) que se tomó como referencia hasta los 8 días de almacenamiento a 5 °C. Además no se observaron diferencias significativas entre las dos concentraciones aplicadas, por lo tanto seleccionamos como más conveniente la concentración más baja de 2 ppm.

#### 4. CONCLUSIONES

En base a estos resultados, se puede concluir que el tratamiento con O<sub>3</sub> gaseoso es una tecnología de gran potencial para la descontaminación de la superficie de las hojas de rúcula recién cortada. Si bien sería factible la aplicación de O<sub>3</sub> hasta concentraciones de 5 ppm, seleccionamos el tratamiento con 2 ppm para la conservación poscosecha de rúcula cortada mínimamente procesada, ya que este tratamiento mantuvo una buena calidad sensorial y no influyó significativamente en los diferentes parámetros de calidad estudiados, y permitió retardar el desarrollo microbiano durante 8 días de almacenamiento a 5 °C. La concentración de 5 ppm no aportó un efecto adicional en la conservación y seguridad microbiológica del producto.

#### 5. REFERENCIAS

- Ali A., Ong M.K., Forney C.F. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chem.* 142: 19-26, 2014.
- Artés, F., Gómez, P., Aguayo, Artés-Hernández, F. Pérdida de calidad y su control en productos hortofrutícolas mínimamente procesados en fresco (MPF). Aspectos nutricionales y sensoriales de vegetales frescos cortados. Cap.1: 19-43, 2009.
- Artés-Hernández, F., Escalona, V.H., Robles, P.A., Martínez-Hernández, G.B., Artés, F. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *J. Sci. Food Agric.* 89: 414-421, 2009.
- Aziz, K., Ding, P. Ozone application in fresh fruits and vegetables. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, 4(2): 29-35, 2018.
- Beltrán, D., Selma, M.V., Marin, A., Gil, M.I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 53: 5654–5663, 2005.
- BOE. Normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. Real Decreto, 3484/2000, 1435–1441, 2000.
- Char C., Silveira A.C., Inestroza-Lizardo C., Hinojosa A., Machuca A., and Escalona V. H. Effect of noble gas-enriched atmospheres on the overall quality of ready-to-eat arugula salads. *Postharvest Biol. Technol.* 73: 50-55, 2012.
- Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M. B., Palou, L., Maraschin, M., & Monteiro, A. R. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biol. Technol.* 109: 73-81, 2015.
- Gutiérrez, D.R., Chaves, A.R., Rodríguez, S.D.C., Use of UV-C and gaseous ozone as sanitizing agents for keeping the quality of fresh-cut rocket (*Eruca sativa* Mill.). *J. Food Process. Preserv.* 00: 1–13, 2016.
- Gutiérrez, D.R., Chaves, A.R., and Rodríguez, S. D. C. UV-C and ozone treatment influences on the antioxidant capacity and antioxidant system of minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Postharvest Biol. Technol.* 40, 138, 107-113, 2018.
- Gutiérrez, D. R., & Rodríguez, S. D. C. Combined Effect of UV-C and Ozone on Bioactive Compounds and Microbiological Quality of Fresh-Cut Rocket Leaves. *American J. Food Sci. Technol.*, 7(3): 71-78, 2019.
- Karaca H., and Velioglu Y.S. Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. *Postharvest Biol. Technol.*, 88: 46-53, 2014.
- Klockow, P.A., Keener, K.M. Safety and quality assessment of packaged spinach treated with a novel ozone-generation system. *Food Sci. Technol.* 42: 1047–1053, 2009.
- Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*, 148: 350-382, 1987.
- Olmez H., and Akbas M.Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. *J. Food Engineering*, 90: 487-494, 2009.
- Ong M.K., Ali A., Alderson P.G., Forney C.F. Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defense-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. *Sci. Horticulturae*, 179: 163-169, 2014.
- Papachristodoulou, M., Koukounaras, A.,

Siomos, S., Liakou, A., Gerasopoulos, D.  
The effects of ozonated water on the microbial counts  
and the shelf life attributes of fresh-cut spinach.  
*J. Food Process. Preserv*, 42(1), 13404, 2018.

Pretell-Vásquez, C., Márquez-Villacorta, L.,  
Siche, R., Hayayumi-Valdivia, M. Efecto del ozono  
y tiempo de almacenamiento sobre las características  
fisicoquímicas de espárrago verde (*Asparagus*  
*officinalis* L.) mínimamente procesado. *Ciencia y*  
*Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1506. 2020.

Torales, A. C., Gutiérrez, D. R., Rodríguez,  
S. D. C. Influence of passive and active modified  
atmosphere packaging on yellowing and chlorophyll  
degrading enzymes activity in fresh-cut rocket  
leaves. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100569,  
2020.