Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

USO DE AGENTES ANTIOXIDANTES Y ENVASADO EN ATMÓSFERAS MODIFICADAS PARA MANTENER LA CALIDAD DE RODAJAS DE PIÑA FRESCA

PHESENTADA POI,!

SAÚL RUÍZ CRUZ

TESIS APROBADA POH LA

DIRECCIÓN DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

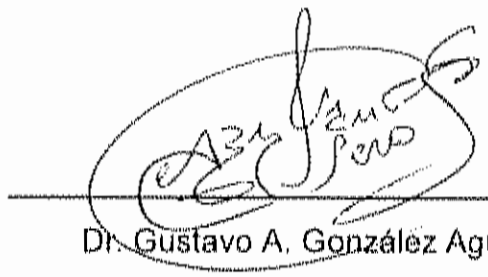
COMO l EQUISITO PARCIAL PARA OBTEN El EL GRADO DE

MAESTRiA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA JULIO DEL 2002

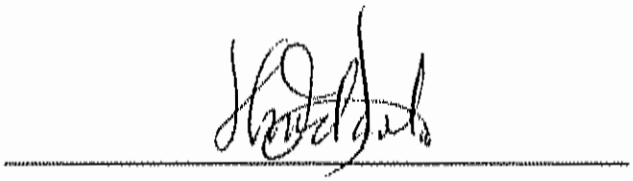
APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis del I.B. Saúl Ruíz Cruz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.

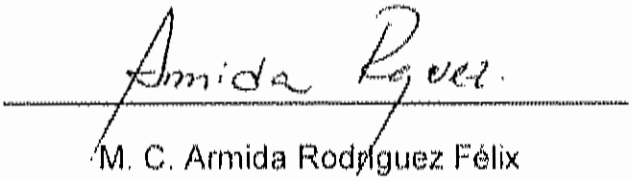


Dr. Gustavo A. González Aguilar
Director de Tesis

Dr. Ramón Pacheco Aguilar



Dr. Herlinda Soto Valdez

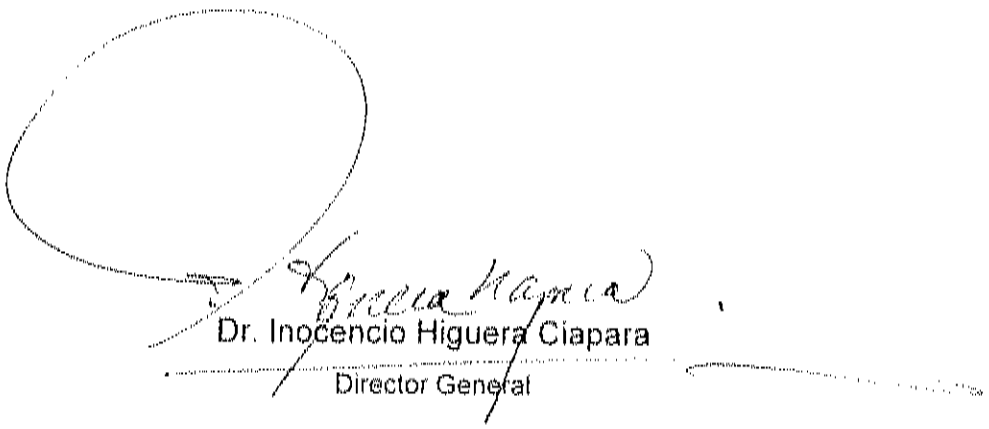


M. C. Armida Rodríguez Félix

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de la tesis.



Dr. Inocencio Higuera Ciapara

Director General

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, a mis padres, hermanos y mi vida (mi esposa Ana Luisa y mi hija Mariana), gracias por su paciencia y sobre todo por su AMOR.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo brindado para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.), por haberme abrigado en sus instalaciones y permitirme alcanzar una meta más dentro de mi formación personal y profesional.

A la Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (DTAOV), por brindarme sus instalaciones para llevar a cabo la realización de este trabajo.

Muy en especial a mi asesor de tesis, amigo y consejero Dr. Gustavo A. González Aguilar, gracias por todo su apoyo, consejos, su confianza y sobre toda su amistad, mil gracias. De igual forma, a su esposa Ana, gracias por sus consejos.

A mi comité de tesis Dr. Ramón Pacheco, M.C. Armida Rodríguez y la Dr. Herlinda Soto.

Al M.C. Reynaldo Cruz, por su apoyo en la realización de este trabajo, pero sobre todo, gracias por sus consejos y su amistad. A la M.C. Judith Fortiz, por su apoyo en la realización de esta trabajo.

A todos mis profesores, por brindarme parte de sus conocimientos y sobre todo por su paciencia durante las clases.

Al Dr. Juan Pedro Camou, por todo su apoyo, desde mi llegada al CIAD.

Al Dr. Alberto González, por su incondicional apoyo, amistad y por sus observaciones realizadas a este trabajo. Así también, a la Dr. Ana María Calderón, por todos sus consejos.

Al M.C. Humberto González, por su amistad y por su apoyo en los análisis estadístico.

Al Dr. Miguel Ángel Martínez y Reginaldo Báez, gracias por prestarme su colorímetro.

A nuestro equipo de trabajo dirigido por el Dr. Gustavo González: Erika, Fabiola, Thelma, Dulce, Judith, Reynaldo, Fernando, y Ricardo.

A mis compañeros de generación: Claudia, Tania, Luz Maria, Katia, Lyssia, Sayda, Hayde, Iliana, Enrique, Rene, Ricardo, Jorge y Felipe. Gracias por su amistad y por todos los momentos que pasamos juntos.

Al Q.B. Francisco Vázquez (Guero), por su incondicional apoyo y sobre todo por su tiempo brindado para la determinación de azúcares y vitamina C.

Al área de docencia quienes siempre están a disposición en lo que se nos ofrezca: Ana Isabel, Katy, Norma y Héctor. De igual forma, a Don Héctor y Faly, gracias.

Al equipo de la biblioteca, quienes siempre están allí, para cualquier apoyo: Magda, Gerardo, Luis y Fernando.

A Victor Ocaño, gracias por sus consejos.

A María del Carmen y Francisco Lara, por prestarme el texturómetro. Así también a Jorge Mercado, Olivia, Brenda, Mónica, Ana María y Alberto.

A quines me brindaron siempre su amistad Hector, Carlitos, Raymundo, Maria Luisa, Citlali, Yeren, Mata, y a todos quienes de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo.

A la Dr. Natalia González, Libertad, German y Martín Valenzuela, por apoyarme desde mi llegada a este centro.

Muy en especial a mis amigos Guadalupe, Jaime, Jaime, Irlanda y Alma.

A Elvia, Mary, Inde, Martha, Ana Laura, Pedro y Francisco, gracias por su amistad y apoyo.

A los guardias y veladores Rios, Don Lino, Don Román, Quintana, Cuate y Moisés, gracias por estar siempre a nuestra disposición.

DEDICATORIA

A DIOS.

A quienes ya no están con nosotros (mis abuelos).

A mis padres Maria Jesús y Crescencio, gracias por darme la vida, su AMOR y su incondicional apoyo.

A los ángeles que iluminan mi sendero mi esposa Ana Luisa, gracias por tu AMOR, paciencia y tu gran apoyo. Mi hija MARIANA, gracias por tus sonrisas, besos y por llenar nuestra casa de AMOR y ALEGRIA, y perdón por todo el tiempo que les he robado.

A mis hermanos Joel, José, Rosario, Elva, Ramón, Juan Manuel, Crescencio y Ricardo, gracias por su amor y apoyo.

A mis sobrinos, Loruhama, Yoveni, Yohana, Marely, Cristal, Diana, Yusely, Angelica, Nataly, Fernanda, Alberto, Francisco (Panchito), Juan Manuel, Victor, Kenet, David, Daniel, Alexei, gracias por todas sus sonrisas.

CONTENIDO

Página

ÍNDICE DE CUADROS xii
ÍNDICE DE FIGURAS xiii
RESUMEN xvi
INTRODUCCIÓN 1
HIPÓTESIS 3
OBJETIVOS 3
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN 4
·Aspectos Fisiológicos y Bioquímicos Durante el Desarrollo de la Piña 5
Crecimiento y Desarrollo 5
Maduración y Senescencia 6
Respiración 6
Azúcares 6
Acidez 7
Pigmentos 7
Volátiles 7
Otros cambios 8
Composición Química 8
Pérdidas Postcosecha 10
Frutos y Vegetales Cortados 10
Factores que Afectan la Calidad en Frutos y Vegetales Cortados 11
Materia prima 11
Variedad 11
Estado de madurez 12
Tamaño del fruto 13

Página

Cambios de Calidad de los Productos Cortados 13
Físico-Químicos 13
Textura 13
AT, SST y pH 14
Fisiológicos y Bioquímicos 15
Sensoriales 17
Aroma y sabor 17
Microbiológicos 18
Nutrimentales 20
Oscurecimiento Enzimático 20
Polifenoloxidasa (PPO) 20
Propiedades y localización 22
Sustratos utilizados 22
Inhibidores del oscurecimiento 23
Reducción de oxigeno 24
Disminución del pH 24
Agentes reductores 24
Métodos Utilizados Para Mantener la Calidad y Prolongar la Vida de Anaquel en Frutos y Vegetales Cortados 25
Físicos 26
Refrigeración 27
Tratamientos térmicos 27
Irradiación 27
Envasado en atmósferas modificadas (EAM) y controladas (AC) 28
Químicos 32
Lavado con cloro 32
Antioxidantes 33

Página

MATERIALES Y MÉTODOS 39
Materia prima 39
Evaluaciones Físico-Químicas 44
Composición de la Atmósfera Dentro del Envase (O_2, CO_2 y C_2H_4) 44
Color (L^* y b^*) 44
Porcentaje de Exudado por Compresión 45
Firmeza 45
Sólidos Solubles Totales 45
Acidez Titulable y pH 46
Evaluaciones Subjetivas 46
Índice de Deterioro, Calidad y Oscurecimiento 46
Evaluaciones Bioquímicas 47
Ácido Ascórbico 47
Azúcares 48
Etanol y Acetaldehído 48
Fenoles Totales 49
Actividad de la Polifenoloxidasa 49
Vida de Anaquel 51
Diseño Experimental 51
Análisis Estadístico 51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 52
Evaluaciones Físico-Químicas 52
Composición de la Atmósfera Dentro del Envase (O_2, CO_2 y C_2H_4) 52
Color (L^* y b^*) 57
Porcentaje de Exudado por Compresión 60

Página

Firmeza 62
Sólidos Solubles, Acidez Titulable y pH 65
Evaluaciones Subjetivas 65
Índice de Deterioro y Aceptabilidad 65
Índice de Oscurecimiento 73
Evaluaciones Bioquímicas 77
Ácido Ascórbico 77
Azúcares 81
Etanol y Acetaldehído 85
Fenoles Totales 89
Actividad de la Polifenoloxidasa 92
Vida de Anaquel 97
CONCLUSIONES 100
BIBILIOGRAFÍA 102

ÍNDICE DE CUADROS

Página

1. Análisis general y valor nutricio del fruto de piña fresco 9
2. Agentes antioxidantes y rangos utilizados, durante trabajos preliminares en rodajas de piña fresca, previo al envasado y almacenado a 10°C 41
3. Soluciones utilizadas en rodajas de piña, previo al envasado y almacenamiento a 10°C 42
4. Efecto de agentes antioxidantes y EAM sobre los cambios de calidad de rodajas de piña, envasadas y almacenadas 7 y 14 días a 10°C 66

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

1. Reacción general del oscurecimiento catalizada por la enzima PPO, a partir de substratos fenólicos 21
2. Oscurecimiento enzimático: Reacciones de los sulfitos, AC, AA y AIA para inhibir el oscurecimiento enzimático, provocado por la PPO 35
3. Diagrama de flujo del experimento 40
4. Cambios de la atmósfera O_2 y CO_2 dentro del envase de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=6) 53
5. Producción de C_2H_4 dentro del envase de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=6) 56
6. Parámetros de color (L^* y b^*) de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, inicial y después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=20) 59
7. Porcentaje de exudado de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM y almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=6) 61
8. Cambios en firmeza de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=12) 63

..... continuación

Página

9. Índice de deterioro y aceptabilidad general de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=10$) 68

10. Apariencia general de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes, EAM, después de 14 días a 10°C 69

11. Índice de oscurecimiento de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=10$) 75

12. Cromatograma de HPLC característico en el contenido de AA, del estándar (A) y del extracto de rodajas de piña fresca (B). El análisis se realizó en una columna Waters-NH2 tipo µBondapack de 3.9 x 300 mm de diámetro y longitud con 10 µm de tamaño de partícula. Se utilizó acetonitrilo-fosfato de potasio (75:25 v/v) como fase móvil y un detector UV-VIS Varian 9050 a una longitud de onda de 268 nm. El tiempo de la corrida fue de 15 min 78

13. Contenido de AA en rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, y almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$) 80

14. Cromatograma de HPLC característico de estándares de glucosa (A), fructosa (B) y sacarosa (C) y del extracto de piña fresca. El análisis se realizó en una columna µBondapack/Carbohydrate de 3.9 x 300 mm de diámetro y longitud con 10 µm de tamaño de partícula. Se utilizó acetonitrilo-agua (80:20 v/v) como fase móvil y un detector UV-VIS Varian 9050 a una longitud de onda de 192 nm. El tiempo de la corrida fue de 15 min 82

..... continuación Página

15. Contenido de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) en rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=6) 83

16. Contenido de acetaldehído y etanol en rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=5) 87

17. Cambios en el contenido de fenoles totales en rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=9) 90

18. Efecto del tratamiento con los compuestos antioxidantes y envasado sobre los cambios en la actividad específica de la PPO en rodajas de piña fresca almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) (n=9) 94

19. Vida de anaquel de rodajas de piña fresca y efectividad del AIA 0.1 M de acuerdo a la época de cosecha 98

RESUMEN

México destina el 70% de su producción de piña al mercado fresco nacional, 25% al industrial y tan solo el 5% al fresco de exportación. De allí la importancia de buscar nuevas alternativas de comercialización. En los últimos 10 años, se ha incrementado considerablemente la demanda de frutos y vegetales cortados. Sin embargo, el principal problema de estos frutos es que son muy perecederos y tienen una vida de anaquel muy corta (1-3 días). Actualmente, la forma más común de comercialización de frutos y vegetales cortados es el envasado en bolsas de polietileno o bandejas de poliestireno cubiertas con películas plásticas. Recientemente, se ha observado que el uso de antioxidantes solos o en combinación con el EAM, pueden reducir el oscurecimiento y deterioro en frutos y vegetales cortados. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de varios antioxidantes, en combinación con el EAM sobre la calidad de rodajas de piña fresca. Para llevar a cabo el presente trabajo, se utilizaron frutos de piña, los cuales fueron desinfectados, pelados, cortados y tratados con diferentes soluciones AIA (0.1 M), AC (0.05 M) y AA (0.05 M). Posteriormente, se envasaron y almacenaron por 14 días a 10°C. A intervalos de 3 días se evaluó: la atmósfera dentro del envase (O_2, CO_2 y C_2H_4), color (L*, b*), los principales parámetros de calidad (pH, SST y AT), firmeza y porcentajes de exudado. Se evaluó subjetivamente el índice de deterioro y oscurecimiento, así como la apariencia general. También se evaluaron los cambios bioquímicos como: el contenido de ácido ascórbico, azúcares, etanol y acetaldehído, así como el contenido de fenoles y actividad de PPO. De acuerdo a los parámetros evaluados, se encontró que el tratamiento con AIA 0.1 M y AC 0.05 M en combinación con el EAM, presentaron los menores cambios de oscurecimiento y deterioro y mantuvieron la calidad por un período mayor (6-7 días), comparados con los frutos control.

INTRODUCCIÓN

México destina el 70% de su producción de piña fresca al mercado nacional. Sin embargo, uno de los principales problemas a los que se enfrenta es la estacionalidad de su producción, ya que tiene su manifestación directa en la comercialización. De allí la importancia de buscar nuevas alternativas de comercialización de dicha fruta (Yoldi y col., 2000).

Actualmente el mercado de la industria alimentaria mundial ofrece varias alternativas para el consumo de alimentos. De ahí que el desarrollo de preferencias y necesidades sea un proceso en movimiento. El consumidor, objetivo principal de los procesadores de alimentos, ha modificado sus hábitos alimenticios. Por lo tanto, la industria alimentaria debe de mantener sus productos dentro del gusto del consumidor y poder así ser competitiva en el mercado.

Por otro lado, el consumidor esta demandando productos de alta calidad y de consumo inmediato, que contengan sólo ingredientes naturales (Laurila y col., 1998). Entre los productos que mas demanda han tenido durante los últimos 10 años, están los frutos y vegetales listos para comer o mínimamente procesados. Ello debido a sus buenas características organolépticas y nutrimentales (Anonimous, 1999). Sin embargo, el principal problema de los frutos y vegetales frescos cortados, es que son muy perecederos y tienen una vida de anaquel muy corta (1-3 días) (Ahvenainen, 1996).

Durante los procesos de preparación (pelado, cortado y picado) de los frutos y vegetales, se favorecen algunas reacciones de deterioro, como el oscurecimiento y el desarrollo de microorganismos en el tejido, los cuales disminuyen significativamente la vida de anaquel del producto (Watada, 1997). Por ello, es necesario la búsqueda de nuevas alternativas a los métodos de conservación actuales, con el fin de desarrollar tecnologías simples y baratas

que retrasen estos procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica, durante el periodo de comercialización.

La forma más común de comercialización de frutos y vegetales cortados, es el envasado en bolsas de polietileno o bandejas de poliestireno cubiertas con películas plásticas, con apropiada permeabilidad a los distintos gases de interés (Gorny, 1998; Thompson, 1998). La modificación pasiva de la atmósfera creada naturalmente por el producto, puede retrasar el oscurecimiento, deterioro y mantener la frescura del producto (Watada, 1997; Gorny, 1998).

Recientemente, se ha observado que el uso de antioxidantes y agentes antimicrobianos tales como 4-hexilresorcinol (HR), N-acetilcisteina (AC), ácido ascórbico (AA), ácido isoascórbico (AIA), sorbato de potasio (SP), solos o en combinación con el envasado en atmósferas modificadas (EAM), pueden reducir el oscurecimiento, deterioro y el desarrollo de microorganismos en frutos y vegetales cortados (Buta y col., 1999; Buta y Abbott, 2000; González-Aguilar y col., 2000; Gorny, 2001). Al parecer la combinación del uso de compuestos naturales y EAM, presentan una alternativa viable en la conservación de frutos y vegetales cortados, en especial aquellos susceptibles al oscurecimiento y al deterioro.

La información que existe en frutos tropicales cortados es muy escasa. Por lo que estudiar el efecto de estos compuestos en frutos tropicales como la piña, podría ser de gran relevancia científica y tecnológica y una nueva alternativa de comercialización del producto en los mercados nacionales e internacionales.

HIPÓTESIS

El uso individual y/o mezclas apropiadas de agentes antioxidantes en combinación con el envasado, reduce el oscurecimiento, deterioro y prolonga la vida de anaquel de rodajas de piña fresca.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el efecto de diferentes tratamientos utilizando agentes antioxidantes solos o combinados y envasado en atmósferas modificadas, en la velocidad de deterioro, oscurecimiento y pérdida de calidad de rodajas de piña fresca.

Objetivos Particulares

1. Evaluar el efecto de los diferentes agentes antioxidantes y EAM sobre los cambios físico-químicos de rodajas de piña durante el almacenamiento a 10°C.

2. Determinar si los cambios en la atmósfera dentro del envase afectan el metabolismo anaeróbico del producto.

3. Determinar la efectividad de los tratamientos con los cambios en el contenido de azúcares, ácido ascórbico, contenido de fenoles y actividad de la enzima PPO en el mantenimiento de la calidad de rodajas de piña fresca.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

México se ha consolidado en el mercado internacional de frutas tropicales y subtropicales, como uno de los principales exportadores a nivel mundial. La piña es la excepción entre dichas frutas. México ocupa el octavo lugar a nivel mundial en la producción de piña, con una superficie anual promedio de 10 mil 500 hectáreas sembradas en los últimos seis años y volumen de 545 mil ton/año. Actualmente se destina el 70% de la producción total al mercado fresco nacional, 25% al industrial y tan sólo el 5% al fresco de exportación (Yoldi y col., 2000).

La producción de piña en nuestro país está caracterizada por una marcada concentración, no sólo en algunos Estados sino además, en una región específica. De acuerdo a estudios de potencial productivo realizados por el INIFAP durante el período de 1990-99, cinco entidades concentraron el 99% de la superficie sembrada y cosechada, así como de la producción. Estas entidades por orden de importancia son: Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Nayarit y Jalisco (Yoldi y col., 2000).

La época de cosecha en nuestro país, está bien delimitada, ya que la mayor producción se obtiene durante el primer semestre del año, concentrándose un mayor volumen durante los meses de mayo y junio. Mientras que la etapa de menor producción se ubica de mediados de julio hasta noviembre y de acuerdo a las condiciones climáticas se llega a extender hasta diciembre (Uriza-Avila y col., 1994).

La piña se clasifica dentro de la familia *Bromeliáceas* del orden de las Iriales, dentro del género de las *Ananas*. En esta familia existen tres subgéneros: *Comosus* (forma semillas capaces de germinar), *Sativus* (sin semillas) y *Lucidus* (no poseen espinas) (Samson, 1980; Knight, 1980).

En México el subgénero más conocido es el *Ananas comosus*, de las cuales las variedades comerciales que se producen son: la Española roja, Cabezona, Sugar Loaf, Esmeralda y la Cayena Lisa (Samson, 1980, Knight, 1980).

Las flores dan fruto sin necesidad de fecundación y del ovario hipogino se desarrollan unos frutos en forma de baya, que conjuntamente con el eje de la inflorescencia y las brácteas, dan lugar a una infrutescencia carnosa (sincarpio). En la superficie de la infrutescencia se ven únicamente las cubiertas cuadradas y aplanadas de los frutos individuales. La maduración toma de 5 a 6 meses y en la parte superior del fruto se encuentra una corona de hojas, las cuales continúan creciendo hasta que el fruto madura y pueda ser utilizado para la propagación (Samson, 1980).

Aspectos Fisiológicos y Bioquímicos Durante el Desarrollo de la Piña

Crecimiento y Desarrollo

El crecimiento de la piña se manifiesta por cambios en peso y tamaño. Durante el crecimiento, el peso del fruto continúa incrementándose formando de esta manera una curva simple sigmoidal (Sideres y col., 1938; Teisson 1973). La piña presenta tres fases de crecimiento: 1) la fase vegetativa del crecimiento de las hojas, 2) la fase generativa del crecimiento de los frutos, y 3) otra fase vegetativa del crecimiento disparado (Samson, 1980).

Durante el desarrollo del fruto el contenido de almidón aumenta; sin embargo al llegar la maduración la conversión del almidón en azúcares es muy rápida. Por otro lado, los niveles de clorofila se mantienen altos, el pH del fruto disminuye durante el desarrollo de éste, y el contenido de azúcares aumenta. La acidez aumenta al llegar la maduración; sin embargo, durante la senescencia tiende a disminuir. Durante el crecimiento del fruto el grado de respiración tiende a disminuir, pero durante la maduración y senescencia presenta un ligero aumento (Gortner y col., 1967; Paull, 1993).

Maduración y Senescencia

Gortner y col. (1967), observaron una serie de cambios físico-químicos que toman lugar en el desarrollo del fruto, respiración, clorofila, pH, nitrógeno no proteico, acidez, °Brix, volátiles, y peso del fruto. Durante un período aproximado de 110 días se completó la floración, maduración y senescencia del fruto, donde encontraron cambios significativos en todos los parámetros.

El periodo de maduración de la piña se caracteriza por un rápido decline del pH, respiración, clorofilas, así como un aumento del contenido de sólidos solubles totales, acidez, azúcares y carotenos (Dull y col., 1967; Gorter y col., 1967; Chen y Paull, 1995).

Respiración. La maduración del fruto de piña exhibe un modelo no climatérico. Después de la cosecha, a una temperatura de 10°C, la velocidad de respiración es de 3-5 mL CO_2/kg.h y se incrementa con la temperatura (Dull y col., 1967; Kader, 2001). La producción de etileno incrementa ligeramente durante la maduración y senescencia a una concentración de 0.2 µL/kg.h. Los cambios químicos más marcados durante el crecimiento y desarrollo de la piña se dan en almidón, acidez y en los compuestos nitrogenados (Gorter y col., 1967; Paull, 1997).

Azúcares. Los sólidos solubles totales (SST) incrementan gradualmente al iniciar la maduración, alcanzando un máximo en la última etapa de madurez (Lodh y col., 1972; Py y col., 1987). Los azúcares en el fruto en la planta continúan aumentando durante la senescencia. Después de la cosecha los SST tienden a disminuir lentamente. El almidón no es acumulado durante la maduración del fruto, aunque en la etapa temprana del crecimiento se mantiene alto (Dull, 1971). Los azúcares de mayor predominancia son la sacarosa, glucosa y fructosa (Chen y Paull, 1995).

Acidez. El pH disminuye durante el crecimiento del fruto, alcanzando un valor de 3.9 a 3.7 al llegar la maduración e incrementa ligeramente durante la senescencia, siendo lo contrario para la acidez; sin embargo al ser cosechados la AT tiende a disminuir lentamente y el pH a incrementar (Chen y Paull, 1995). Algunos estudios indican al ácido cítrico y málico como los dos principales ácidos orgánicos no volátiles presentes en el fruto. El ácido cítrico aumenta ligeramente, con el desarrollo del fruto antes de la maduración total (Singleton y Gortner, 1965; Chen y Paull, 1995). Ambos compuestos varían de acuerdo a los cambios ambientales. El ácido ascórbico no contribuye sustancialmente en la acidez titulable. Sin embargo, existe una correlación positiva entre el ácido ascórbico y la acidez total (Chen y Paull, 1995). Se ha observado, que los niveles de ácido ascórbico después de la cosecha se mantienen constante por 2 semanas al ser almacenados a 10°C (Teisson y Combres, 1979; Paull y Rohrbach, 1982; Chen y Paull, 1995).

Pigmentos. Uno de los cambios más notables durante la maduración y senescencia del fruto en la planta es la disminución de clorofila en la cáscara. La clorofila y los carotenos son los pigmentos que le dan la coloración verde y amarilla al fruto. Los niveles de clorofila muestran un incremento en los últimos 15 días antes de la maduración del fruto para finalmente disminuir (Chen y Paull, 1995). Los carotenos en la cáscara permanecen constantes durante la maduración del fruto, y declinan ligeramente antes de llevarse a cabo la senescencia; sin embargo los carotenos de la pulpa incrementan durante la maduración y senescencia (Lodh y col., 1973; Chen y Paull, 1995).

Volátiles. Los volátiles identificados en el fruto de piña incluyen ésteres, lactonas, aldehídos, cetonas y alcoholes. El aroma y sabor específico de la piña en la maduración se deben principalmente al acetato de etilo y 2-3-butanodiol acetato, etanol y acetaldehído, así como algunos otros compuestos como son:

ácido acético, 5-hidroximetilfurfural, formaldehído, y acetona. Estos compuestos volátiles tienden a aumentar en la planta y después de ser cosechados (Flath, 1986; Chen y Paull, 1995). Recientemente, Katsumi y col. (1992), encontraron alrededor de 157 constituyentes volátiles en piña madura, donde 50 fueron identificados en la primera etapa de maduración.

Otros cambios. Los compuestos fenólicos encontrados en frutos de piña son *p*-coumárico, ácido caféico, ferúlico y sinápico (Fernández de Simón y col., 1992; Wen y Wrolstad, 2002). Estos compuestos, excepto el sinápico, contribuyen al oscurecimiento interno del fruto de piña. Se ha observado, que los cambios en el contenido de fenoles, especialmente en poscosecha y durante el almacenamiento, han sido asociados con el desarrollo en los síntomas del daño por frío en frutos enteros de piña (Paull y Rohrbach, 1985), el nivel de fenoles totales disminuye al inducir el daño por frío y el oscurecimiento de la pulpa (Teisson y col., 1979). El contenido de fenoles y la polifenoloxidasa son bajos durante la postcosecha, sin embargo, estos incrementan al almacenar el fruto a una temperatura de 8°C, al inducirse el daño por frío (van Lelyveld y de Bruyn, 1977; Teisson y col., 1979).

El contenido de proteínas disminuye durante el desarrollo del fruto, se ha observado que los polvos de acetona contienen la, bromelina y una familia de polipéptidos inhibidores de esta enzima (Reddy y col., 1975). La actividad proteasa incrementa durante el desarrollo del fruto (Gortner y Singleton, 1965); sin embargo, durante la maduración la actividad disminuye (Gortner y Singleton, 1965; Lodh y col., 1973).

Composición Química

El Cuadro 1 muestra la composición química en frutos de piña. Se puede observar que, el fruto esta constituido de un 80-85% de agua, 7-17% de azúcares, 0.6% de ácidos (en mayor proporción el ácido cítrico 87% y el resto

Cuadro 1. Análisis general y valor nutricio del fruto de piña fresco.

Constituyente	Peso fresco (%)
Brix	10.8-17.5
Sucrosa	5.9-12.0
Glucosa	1.0-3.2
Fructosa	0.6-2.3
Celulosa	0.43-0.54
Pectina	0.06-0.16
Acidez titulable (en ácido cítrico)	0.6-1.62
Ácido Cítrico	0.32-1.22
Ácido Málico	0.1-0.47
Ácido Oxálico	0.005
Cenizas	0.30-0.42
Agua	80-85
Fibra	0.30-0.61
Nitrógeno	0.045-0.115
Extracto Etér	0.2
Pigmentos (ppm de caroteno)	0.2-2.5
Caroteno (mg)	0.13-0.29
Xanthophylas (mg)	0.03
Ésteres (ppm)	0.2-2.5
Vitaminas (µg / 100 g peso fresco)	
Ácido Fólico	2.5-4.8
Niacina	200-280
Tiamina	69-125
Riboflavina	20-88
Vitamina-B6	10-140
Vitamina-A	0.02-0.04
Ácido Ascórbico	10-25

Akamine, 1976; Dull, 1971.

málico), 0.35% de cenizas. El contenido de vitamina C varía de 10 a 25 mg/100 g de peso fresco. El rango de constituyentes químicos depende de la etapa de madurez, factores agronómicos y ambientales (Gortner y col., 1967). Los azúcares presentes en el fruto son sacarosa, glucosa y fructosa. Las clorofilas y carotenos presentes son los pigmentos que le dan el color verde-amarillo al fruto. Algunos de los compuestos volátiles presentes son ácido acético, formaldehído, acetaldehído y acetona (Dull, 1975).

Pérdidas Postcosecha

Los reportes de la estimación de la pérdida post-cosecha son escasos, donde el promedio mínimo se reporta de un 20-25%, y en ocasiones hasta un 40 a 50% (National Research Council, 1978). Debido a estos problemas, aunado con los cambios en los estilos de vida y la falta de tiempo para preparar los alimentos, la comercialización de este producto presenta ótras alternativas que no han sido explotadas. Actualmente, la industria de frutos y vegetales cortados ha tenido un rápido crecimiento en los últimos años. Por lo tanto, este tipo de productos puede ser una alternativa viable con el fin de diversificar e incrementar los volúmenes de piña en el mercado y minimizar dichas pérdidas postcosecha.

Frutos y Vegetales Cortados

La FDA define a los frutos y vegetales cortados como aquellos productos que se les ha aplicado un pre-cortado, lavado, envasado y refrigerado. Los frutos y vegetales cortados son aquellos que en estado fresco, se les ha alterado físicamente su estado original durante el procesado, pudiendo conservarse en su forma fresca en refrigeración. Además, están listos para

consumir o preparar (Anonimous, 1998). Por otro lado, la Asociación Internacional de Productos Cortados, define a los productos cortados como aquellos que han sido pelados y cortados al 100% y envasados para el consumidor, manteniendo su valor nutritivo (http://www.fresh-cuts.org).

Factores que Afectan la Calidad en Frutos y Vegetales Cortados

Los principales factores que afectan la calidad de frutos y vegetales cortados son: el tipo de cultivo (Kim y col., 1993; Romig, 1995), madurez (Gorny y col., 1998), estado fisiológico y cortado del producto (Brecht, 1995), tratamientos postcosecha y almacenamiento (Watada y col., 1996), técnicas de procesado (Bolin y col., 1977; Salveit, 1997; Wright y Kader, 1997), métodos de desinfección (Hurst, 1995), tipo de envasado (Solomos, 1994; Cameron y col., 1995) y temperatura de manejo durante el proceso y mercadeo (Brecht, 1999).

Materia prima. Todos los frutos y vegetales son muy susceptibles al daño mecánico, algunos más que otros. Durante el procesado de frutos y vegetales es removida la cutícula natural del fruto, permitiendo una mayor difusión de los gases y favoreciendo de esta manera la pérdida de volátiles y el ataque microbiano. De igual forma, al haber daños en el tejido se incrementa la respiración, la producción de etileno y la pérdida de agua. Todos estos factores contribuyen a la disminución de la vida de anaquel del producto. Por lo tanto, al utilizar equipos adecuados durante el procesamiento (navajas y cuchillos filosos) se logra la reducción de los daños mecánicos, prolongándose la vida de anaquel de frutos y vegetales cortados (Gorny y Kader, 1996).

Variedad. Algunos autores, han reportado que la calidad final del producto varía de acuerdo a la región, clima, temporada y variedad del fruto. Por ejemplo Haagen y col. (1945), encontraron que en frutos de piña el contenido de volátiles

era mayor en la temporada de invierno. De igual manera, se ha observado que en frutos de manzana el contenido de volátiles varía de temporada a temporada (López y col., 1998). Se ha observado que algunas variedades de frutos son más adecuadas para el procesado que otras (Kim y col., 1993; Cantwell y Portela, 1997; Lange, 1998; Gorny y col., 1999; Anonimous, 2000).

Gorny y col. (1999), encontraron que la vida de anaquel de rodajas de durazno y nectarina de 13 y 8 cultivares varió entre 2 y 12 días a 0°C y una humedad relativa de 90-95%. Basados en la calidad visual, de dos diferentes variedades de pera "Bosc" y "Bartlett" almacenadas en aire a 10°C, se encontró que la vida de anaquel fue de 3 - 4 días (Gorny y col. 2000). Por otro lado, se encontró que la vida de anaquel de rodajas de pera "Anjou" y "Red anjou" fue de tan solo dos días (Gorny y col. 1998a). Sin embargo, las rodajas de pera "Bosc" y "Bartlett" presentaron una mayor pérdida en la firmeza. Por lo tanto, la selección del cultivar es probablemente unos de los parámetros más importantes que hay que tomar en cuanta al procesar frutos y vegetales (Amiot y col., 1995).

Estado de madurez. Muchos frutos son cosechados antes de estar listos para el consumo, por lo que requieren ser madurados hasta alcanzar las características adecuadas que el consumidor exige como son: dulzura, jugosidad y textura. La etapa de madurez del fruto es muy importante durante el procesado ya que afecta la calidad y vida de anaquel del producto final. Por ejemplo, se ha observado que al emplear frutos sobre maduros durante el procesado se reduce su vida de anaquel, así como la pérdida de firmeza, como se ha observado en frutos cortados de pera y durazno (Gorny y col., 2000). Por otro lado, al emplear frutos inmaduros se desarrolla un sabor indeseable del fruto, pero la textura de este no se ve afectada (Gorny y col., 1998; Beaulieu y col., 1999; Gorny y col., 2000).

Por lo tanto, el grado de madurez del fruto durante el cortado tiene efectos significativos en la vida de anaquel. Por ejemplo, en frutos cortados de pera con una firmeza inicial de 40 N, se observó una vida de anaquel de tan solo 2 días al

ser almacenados a 0°C (Gorny y col., 2000). Sin embargo, al emplear frutos de pera con una firmeza de 70-85 N se observó una vida de anaquel de 9 días al ser almacenados a 0°C (Dong y col., 2000). Se ha observado, en frutos cortados de durazno, nectarina, pera y papaya que a mayor madurez, se reduce la vida de anaquel (Paull y Chen, 1997; Mencarelli y col., 1998; Gorny y col., 1998; Beaulieu y col., 1999). Por lo tanto, la temperatura de almacenamiento y la etapa de madurez afecta significativamente la vida de anaquel del producto.

Tamaño del fruto. Se ha observado que el tamaño del fruto no afecta significativamente la calidad y vida de anaquel de frutos cortados. En un estudio realizado por Gorny y col. (2000), en frutos de pera, al emplear 3 tamaños diferentes, no encontraron diferencia en la vida de anaquel, basados en el color y firmeza. Sin embargo, las rodajas de los frutos de mayor tamaño presentaron una decoloración más rápida durante el almacenamiento, así como una mayor pérdida de sólidos solubles. De esta manera, se puede observar, que en algunos casos los frutos pequeños, los cuales tienen menor precio en el mercado, pueden ser aprovechados para el procesado, dándoles a estos un valor agregado como producto final (Gorny y col., 2000).

Cambios de Calidad en los Productos Cortados

Físico-químicos

Textura. La textura en los frutos y vegetales cortados es un atributo muy importante que hay que cuidar, ya que es un factor que el consumidor toma en cuenta para la decisión de su compra. Se ha observado que el ablandamiento del tejido, es uno de los principales problemas que afectan la calidad en frutos y vegetales cortados. Por otro lado, la firmeza es un atributo de calidad muy importante que se ve disminuido por el ablandamiento de las células causado

por las enzimas presentes en el tejido del fruto (Varoquaux y col., 1990). Se ha reportado que la firmeza en frutos y vegetales cortados puede mantenerse al ser tratados con sales de calcio. Algunos trabajos han encontrado que soluciones de 0.5 - 1% de cloruro de calcio son muy efectivas para mantener la firmeza en frutos cortados de durazno y nectarina (Gorny y col., 1998), fresa y pera (Rosen y Kader, 1989) y manzana (Ponting y col., 1972).

Recientemente, se ha encontrado que la aplicación de cloruro de calcio + lactato de calcio, mantiene la calidad e imparte un buen sabor en frutos cortados de melón (Luna-Guzmán y Barret, 2000). Sin embargo, el cloruro de calcio puede producir malos olores en algunos productos. Kim y col. (1993), encontraron que en frutos cortados de 12 variedades de manzana, tratados con cloruro de calcio, se perdía la firmeza al ser almacenados por 7 días a 2°C. Sin embargo, al aplicarles calor después del procesado, se mantenía dicha firmeza durante el almacenamiento, pero solo en algunas variedades (Kim y col., 1994).

Por otro lado, Abbe y col. (1988), encontraron que rodajas de melón después de 4 días de almacenamiento a 5°C perdían la firmeza en un 47%. De igual manera, se ha observado en cubos de melón una pérdida en la firmeza mayor al 25% durante el almacenamiento en una atmósfera de aire a 5°C por 12 días, esta pérdida en la firmeza varió con la variedad (Cantwell y Portela, 1997).

Otros autores, han encontrado que el envasado en atmósferas controladas (EAC) puede mantener la firmeza en algunos frutos y vegetales cortados. Portela y Cantwell (1998), reportaron que en frutos cortados de melón envasados en (21% de O_2 + 15% CO_2) se reducía significativamente la pérdida de firmeza después de 12 días de almacenamiento a 5°C. El tratamiento de atmósferas controladas (2% O_2 + 10% CO_2 a 5°C) mantiene la calidad y firmeza de frutos cortados de melón por más de 6 días (Qi y col., 1999).

AT, SST y pH. Esta bien establecido en la industria de alimentos que el contenido de azúcares es representado por los SST, debido a que

generalmente hay una correlación positiva con el sabor. Sin embargo, ocasionalmente muchos azúcares pueden ser percibidos negativamente, ya que se ha observado que durante el almacenamiento de frutos cortados de melón, el contenido de azúcares fue de 10 a 13 °Brix. Sin embargo, el consumidor juzgó los 13 °Brix como frutos muy dulces (Anonimous, 2000).

La AT y el pH son también muy usados para determinar la relación dulce-ácido en muchos frutos cortados. Kim y col. (1993), encontraron cambios muy pequeños en el contenido de AT, pH y SST en rodajas de manzana (12 cultivares) almacenados por 12 días a 2°C. De la misma forma, los cambios en los niveles de SST en frutos cortados de fresa almacenada en atmósferas controladas por 7 días a 5°C se mantuvieron durante el almacenamiento; sin embargo el pH incrementó a través del tiempo (Wright y Kader, 1997). Por otro lado, en frutos cortados de pérsimo almacenados a 5°C en atmósferas controladas, se observó un incrementó en el contenido de SST en el día 3, disminuyendo al día 8 de almacenamiento, el pH tendió a incrementar durante todo el almacenamiento (excepto para aquellos que se almacenaron a un atmósfera del 2% de O_2). Estos cambios en la acidez pueden ser atribuidos a las bacterias ácido lácticas (Wright y Kader, 1997).

Fisiológicos y Bioquímicos. Durante el periodo postcosecha, los tejidos de los frutos continúan respirando, agotando sus reservas energéticas como azúcares y ácidos orgánicos, trayendo consigo la senescencia. La pérdida de calidad post-cosecha está en función de la respiración (frutos climatéricos), pérdida de agua (transpiración), oscurecimiento en la superficie del corte, deterioro (microbiano) y daños mecánicos sufridos durante la preparación y procesado (Watada y col., 1996).

Para el caso de los frutos climatéricos, estos presentan una subida característica en la tasa de respiración y en la síntesis de etileno. Durante la etapa de maduración en muchos frutos climatéricos hay un incremento en la

producción de CO_2 y C_2H_4. En los frutos no climatéricos como la piña no hay una producción elevada de C_2H_4 y generalmente hay solo un incremento en la respiración en el período de la senescencia. Sin embargo, las heridas causadas durante el procesamiento producen un estrés que estimula la actividad respiratoria, que favorece la síntesis de etileno y las reacciones de deterioro, trayendo consigo una disminución de la vida de anaquel del producto (Abeles y col., 1992; Brecht, 1995).

El etileno puede inducir la biosíntesis de enzimas asociadas a la maduración y procesos de senescencia del producto cortado (Heimdal y col., 1995). Adicionalmente, la velocidad de respiración después del cortado incrementa de 1,2 a 7 veces o más, dependiendo del producto, tamaño y temperatura (O´Connor y col.,1994; Varoquauz y Wiley, 1994; Mattila y col., 1995).

Durante el procesamiento, ocurre la ruptura de muchas células y son liberados productos intracelulares tales como enzimas oxidativas y substratos, que normalmente se encuentran en la vacuola, las cuales entran en contacto con otras enzimas citoplasmáticas beneficiando significativamente las reacciones de deterioro. Aunado a esto, hay un incremento en la actividad de agua, lo cual puede acelerar la pérdida de agua y el ataque microbiano (King y Bolin, 1989; Watada y col., 1990; Wiley, 1994; Heimdal y col., 1995; Watada y Qi, 1999). Estos cambios fisiológicos pueden venir acompañados por una pérdida de sabor, color y vitaminas, de igual manera se aceleran los procesos de deterioro, oscurecimiento y ablandamiento del producto, trayendo consigo la pérdida de calidad del producto y una disminución de su vida de anaquel (Gorny, 2001).

El incremento de la actividad de agua y la mezcla de enzimas y substratos intracelulares e intercelulares pueden también contribuir a la pérdida de sabor y textura durante y después del procesado. Por lo que es muy importante el control de la temperatura de preparación, distribución y almacenamiento (Gorny, 2001).

Uno de los principales problemas que reduce la vida útil de los frutos y vegetales cortados, es el oscurecimiento de la superficie del tejido. Este puede llevarse a cabo por diferentes medios: una oxidación por PPO, por otras enzimas, por una polimerización de fenoles y por causas no enzimáticas (Nicolas y col., 1994). Sin embargo, la alteración del color de los productos hortofruticolas está fundamentalmente relacionada con el oscurecimiento enzimático dada principalmente por la enzima polifenoloxidasa "PPO" (Nicolas y col., 1994; Artés y col., 1998).

Sensoriales. Los frutos y vegetales cortados, han tenido una gran demanda durante los últimos 10 años, esto debido a sus buenas características sensoriales y nutrimentales. El mantener una buena apariencia, sabor y textura son atributos que el consumidor toma en cuanta en la decisión de su compra. Tal es el caso de melón pre-cortado, donde los sólidos solubles (SS), acidez titulable (AT), dulzura, firmeza y el sabor, son características determinantes de su calidad comercial. En 17 variedades de melón, se observó que el contenido de SS decreció en un 5% en un rango del 0-11%. De igual manera, el contenido de azúcares disminuyó alrededor de un 8% durante el almacenamiento por 12 días en una atmósfera de aire a 5°C (Cantwell y Portela, 1997).

Aroma y sabor. Una buena apariencia del fruto no necesariamente implica que éste sea de buena calidad. Por ejemplo, en frutos inmaduros de durazno y nectarinas se observó una buena apariencia durante el periodo de almacenamiento, pero presentaron un olor y sabor desagradables (Gorny y col., 1998a; Beaulieu y col., 1999).

El sabor y el aroma son frecuentemente indicadores que el consumidor toma en cuenta para determinar la vida de anaquel del producto. Sin embargo, en frutos y vegetales enteros generalmente la apariencia nos indica la vida de anaquel (Sapers y col., 1997). Al evaluar sensorialmente frutos cortados de melón

Honeydew, kiwi, papaya, piña y melón Cantaloupe almacenados a 4°C, se encontró que los productos fueron sensorialmente aceptables hasta los 7, 4, 2, 7 y 4 días, respectivamente (O'Connor y col., 1994). Sin embargo, los frutos no fueron desinfectados durante la preparación, debido a esto se observó un crecimiento microbiano, el cual fue asociado con la pérdida de textura, reduciendo de esta manera la vida de anaquel de los frutos. Al evaluar sensorialmente (panel semi-entrenado) frutos cortados de melón almacenados en aire a 5°C por 6 días, se observó una buena textura y un buen sabor (Qi y col., 1998).

Una adecuada desinfección durante el procesado, así como una óptima temperatura de almacenamiento, son parámetros que ayudan a la producción de los compuestos volátiles y al mantenimiento de los mismos en frutos y vegetales cortados (Beaulieu y Baldwin, 2001). Por consiguiente, instrumentos y sensores especiales pueden ser utilizados para determinar la presencia del sabor o compuestos del sabor en frutos y vegetales cortados. Sin embargo, el análisis del sabor en frutos y vegetales cortados requiere de más estudios.

Microbiológicos. El deterioro microbiano es uno de los principales problemas de pudriciones en frutos y vegetales cortados (Brackett, 1994). Durante el pelado y cortado, la superficie del producto se expone al aire y se puede favorecer la contaminación por bacterias, hongos y levaduras. De la misma forma, se produce una fuerte pérdida de líquidos celulares, que son un medio favorable para el desarrollo microorganismos (Heimdal y col., 1995).

El deterioro microbiano en frutos y vegetales cortados puede ocurrir mucho más rápidamente en aquellos productos con altos niveles de azúcares Sin embargo, la acidez del fruto usualmente ayuda a detener el crecimiento microbiano, pero no el crecimiento de hongos y levaduras. Se ha observado que una cuenta menor de hongos y levaduras, esta correlacionado con una mayor vida de anaquel del producto (Heimdal y col., 1995; Gorny, 2001).

Los microorganismos predominantes asociados con el deterioro de vegetales cortados son bacterias (*Pseudomonas y Erwinia spp*), mientras que en frutos cortados los microorganismos asociados con dicho deterioro son hongos y levaduras. En vegetales cortados la proliferación de bacterias puede estar asociada con la senescencia del tejido, y puede o no ser causa de deterioro, excepto cuando están presentes las bacterias pectinolíticas (*Pseudomonas*). El crecimiento de hongos y levaduras en frutos cortados están asociados con el deterioro del producto. El crecimiento inicial de hongos y levaduras puede ser reducido al almacenar los productos a bajas temperaturas (< 5°C) (O'Connor y col., 1994; Qi y col., 1999).

En los frutos cortados con un pH neutro como el melón, las bacterias son las principales causas de deterioro (Lamikarra y col., 2000). Se ha observado en frutos cortados de melón, que envasados en EAC (3% O_2 y 15 o 20% de CO_2) inhibe el desarrollo de bacterias (Cartaxo y col., 1997).

Recientemente, Conway y col. (2000), encontraron que *Listeria monocytogenes* sobrevivía y proliferaba en frutos cortados de manzana envasados en aire o AC (0.5% O_2 + 15% CO_2) almacenados a una temperatura de 10 y 20°C. Sin embargo no se presentaba crecimiento al ser almacenados a 5°C. Por lo tanto, el EAC puede no tener efecto en la supervivencia o crecimiento de *L. monocytogenes* a elevadas temperaturas.

Durante el almacenamiento en frío de los vegetales cortados, la acción pectinolítica de las *Pseudomonas* es responsable de las pudriciones (Wiley, 1994). Sin embargo, muchos estudios muestran que no existe correlación entre las señales de pudrición y los parámetros de pH, ácido láctico, ácido acético, niveles de CO_2, calidad sensorial y carga microbiana total (Merchetti y col., 1992; Howard y Hernández, 1996). Los diferentes productos cortados tienen distintos patrones de putrefacción, los cuales varían según las características de la materia prima (Merchetti y col., 1992).

Para conservar la calidad, es necesario realizar estudios sistemáticos sobre la seguridad microbiológica de frutos y vegetales cortados. Para esto es necesario la aplicación del método HACCP (análisis de riesgos y puntos críticos de control), así como el empleo de buenas prácticas de manufactura, con el fin de prevenir el riesgo de una contaminación microbiológica (Wiley, 1994).

Nutrimentales. Como consecuencia del procesado se producen cambios que perjudican la calidad de los frutos, tanto desde el punto de vista organoléptico como el nutrimental (Mauron, 1990; Friedman, 1996). La pérdida de ácidos orgánicos, vitamina C y carotenos, es el principal problema durante estos procesos ya que reducen la calidad nutrimental de estos productos (Wiley, 1994).

Oscurecimiento Enzimático

Polifenoloxidasa (PPO). El oscurecimiento enzimático requiere de 4 diferentes componentes: oxígeno, una enzima, cobre y sustrato. La PPO es un término que se les da a un grupo de enzimas que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos (substratos), produciendo una coloración oscura en la superficie del producto (Whitaker y Lee, 1995). Durante la preparación de frutos y vegetales cortados ocurre la ruptura de muchas células, liberándose enzimas oxidativas y sustratos, que en presencia de oxígeno reaccionan con los fenoles presentes formando las quinonas, las cuales son rápidamente polimerizadas formando pigmentos de color oscuro o melaninas (Figura 1) (Friedman, 1996).

La enzima PPO, está presente en plantas y animales. Sin embargo, la acción de la PPO en frutos y vegetales frescos (papas, lechugas, manzanas, plátanos, uvas, fresas) ésta causando una gran pérdida económica. Al igual que en algunos frutos tropicales, donde se presentan pérdidas de arriba del 50% causado por el oscurecimiento enzimático.

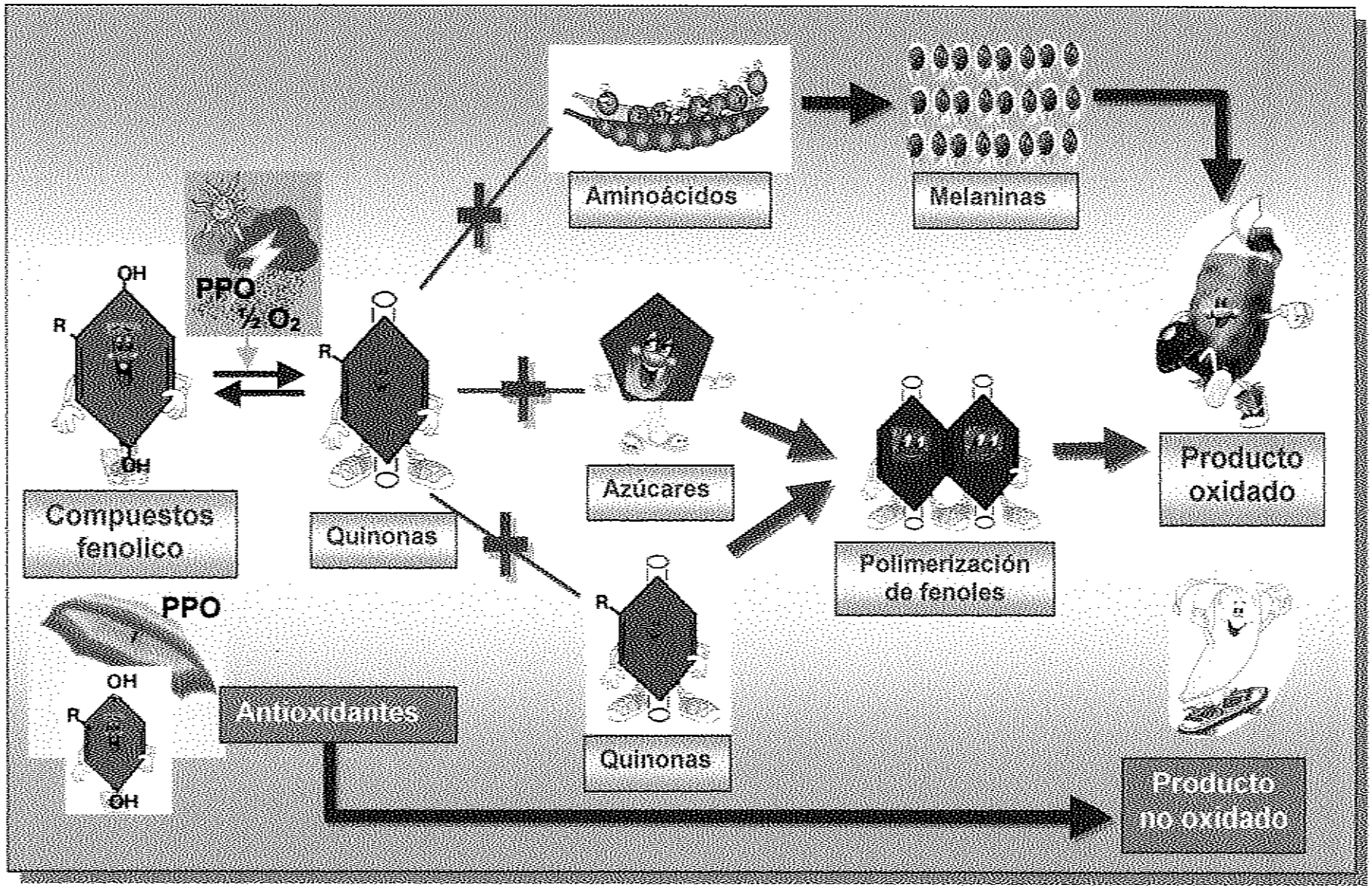


Figura 1. Reacción general del oscurecimiento catalizada por la enzima PPO, a partir de sustratos fenólicos (Friedman, 1996).

Propiedades y localización. La PPO (grupo de oxido-reductasas) es una proteína que contiene cobre como grupo prostético capaz de catalizar dos tipos de reacciones diferentes (Dao y Friedman, 1992). Estas reacciones incluyen la hidroxilación de monofenoles para producir o-difenoles y la dehidrogenación de o-difenoles para producir quinonas. La PPO es de gran importancia en los frutos y vegetales, debido a que participa en diferentes procesos tales como la síntesis de ligninas, oxidación del ácido indol acético y su papel en aspectos fitopatológicos relacionados con resistencia a enfermedades (Pierpoint y col., 1977).

La localización de la PPO en las células de las plantas depende de la especie y variedad; así como de su edad y madurez fisiológica. Sin embargo, Vaughn y Duke (1984), reportaron que la PPO en la mayoría de los frutos y vegetales se encuentran en los plastidios (leucoplastos y cloroplastos). Por otro lado, Vamos-Vigyazo, (1981), reportó que también se encuentra en la mitocondrias. Tolbert, (1973), encontró que en algunas especies vegetales como las espinacas, alfalfa y chícharos, la enzima estaba presente en los cloroplastos.

La enzima probablemente esté presente en todas las plantas. Entre los tejidos con alta actividad de PPO tenemos: hongos, manzanas, duraznos, papas, plátanos, aguacates, granos de café y hojas de tabaco (Whitaker, 1972). Por otro lado, se han realizado una gran cantidad de trabajos sobre el efecto de su actividad en diferentes frutos cortados (Weller y col., 1997; Cano y col., 1998; Aquino-Bolaños y col., 2000). Se ha observado que la actividad de la PPO varía, dependiendo del estado de madurez del fruto, así como el método de pelado y cortado durante el proceso (Stelzig y col., 1972).

Sustratos utilizados. Los frutos y vegetales contienen una gran cantidad de compuestos fenólicos. Sin embargo, solamente una pequeña cantidad de estos sirven como sustrato a la PPO. Las quinonas formadas por la enzima al reaccionar con estos compuestos, pueden reaccionar con aminoácidos y

producir compuestos volátiles (aldehídos), así como la decoloración del producto afectando la apariencia y la calidad del mismo (Martheis y Whitaker, 1984; Sapers, 1993).

De los sustratos naturales más importantes de la PPO en frutos y vegetales, tenemos a las catequinas, ácido cinámico, 3,4-dihidroxi fenilalanina (DOPA) y tirosina (Baruach y Swain, 1959). Para encontrar qué sustrato natural contribuye al oscurecimiento enzimático de cada fruto y vegetal, es necesario conocer la localización y concentración del fenol, así como la intensidad del color obtenido por la formación de los pigmentos formados por las diferentes quinonas (Vamos-Vigyazo, 1981). El pH y la temperatura son dos factores que hay que tomar en cuenta para determinar el sustrato que de la mayor actividad a la PPO. Se ha observado, que la actividad de la PPO en la mayoría de frutos y vegetales se encuentran en un rango de pH de 4 - 7 y de temperatura de 25 - 40°C.

Inhibidores del oscurecimiento. El oscurecimiento es uno de los principales problemas que presentan las frutas y vegetales cortados, y una de las mayores causas de su pérdida de calidad (Heimdal y col., 1995). Por lo tanto, el control de la respuesta fisiológica a las heridas causadas durante el procesamiento de frutos y vegetales, es la clave para conseguir un producto de buena calidad. Sin embargo, el oscurecimiento puede ser prevenido no solamente inactivando la enzima, sino también por la eliminación de uno o dos sustratos necesarios para que se lleve a cabo la reacción (O_2, fenoles o PPO), o bien por la adición de compuestos que reaccionen con la enzima para inhibir o prevenir la formación de compuestos coloridos (Vamos-Vigyazo, 1981).

La mayor o menor sensibilidad de frutos y vegetales al oscurecimiento, es el resultado de la acción de los distintos factores implicados. Entre los más importantes están: la especie y variedad, la edad fisiológica, la naturaleza y cantidad de los sustratos fenólicos, la actividad de las enzimas oxidativas y la disponibilidad de O_2. Existen otros factores que juegan un papel importante en

el oscurecimiento, como son la presencia de compuestos reductores (Vit C), pH, temperatura y los sistemas secuestradores de O_2 (Nicolas y col., 1994). Se han encontrado algunas estrategias para reducir el oscurecimiento provocado por la enzima PPO, dentro de las cuales se encuentran las siguientes:

Reducción del oxígeno. Debido a que la enzima PPO es dependiente de O_2, la reducción de este gas, ya sea al utilizar el envasado al vacío, EAM o AC, se puede reducir significativamente el grado de oscurecimiento. Sin embargo, la actividad de la PPO no es suprimida en su totalidad. Por lo que la selección del empaque adecuado, es esencial para asegurar la cantidad adecuada de O_2 presente. Un exceso de O_2 en nuestro envase puede acelerar el oscurecimiento. Por otro lado, la exposición del producto a niveles muy bajos de O_2 o muy altos de CO_2, puede favorecer los procesos de anaerobiosis con la consecuente formación de etanol, acetaldehído y cetonas, responsables de aromas y olores desagradables en el producto (Gorny, 2001).

Disminución del pH. Algunos trabajos han reportado que la enzima PPO promueve el oscurecimiento a un pH neutral alrededor de 7. Por lo tanto, el oscurecimiento puede ser disminuido al tratar los productos con soluciones ácidas con bajas concentraciones de: ácido acético, ascórbico, cítrico, tartárico, fumárico o fosfórico. Sin embargo, algunos de estos ácidos pueden producir malos olores y algunos son muy caros (Gorny, 2001).

Agentes reductores. El ácido ascórbico y eritórbico, son dos compuestos que comúnmente son usados en la industria alimentaria para prevenir el oscurecimiento inducido por la enzima PPO. Estos compuestos detienen el oscurecimiento al convertir las quinonas (formadas por la PPO al utilizar compuestos fenólicos) a compuestos fenólicos. Desafortunadamente, una vez agotado todo el ácido ascórbico, el oscurecimiento continúa. El ácido ascórbico

generalmente es usado en soluciones al 1% para prevenir el oscurecimiento en la superficie del corte.

Métodos Utilizados Para Mantener la Calidad y Prolongar la Vida de Anaquel en Frutos y Vegetales Cortados

El mercado de frutos y vegetales cortados comenzó a finales de los 80's en EUA, mientras que en Europa, particularmente en Francia, comenzó explosivamente a principios de los 90's. En los EUA el mercado de frutos cortados produjo un 25% de todos los productos en el año 2000.

La conservación de los frutos y vegetales cortados tiene dos propósitos: a) mantener la calidad inicial, sin perder la calidad nutricional y b) prolongar la vida de anaquel por un periodo suficiente para hacerlos accesibles a los consumidores (Bolin y Huxsoll, 1991). Por ello, su vida de anaquel debe de ser por lo menos de 4-7 días, con una calidad microbiológica, sensorial y nutrimental aceptable. Sin embargo, lo ideal sería que alcanzaran una vida de anaquel entre 14-21 días dependiendo del mercado (Wiley, 1994; Ahvenainen, 2000).

Durante las operaciones de preparación del producto, existen una serie de factores que pueden afectar su vida de anaquel. Por esto, es necesario conocerlos con el fin de tener un control estricto y que no afecten la calidad final del producto. Para obtener productos de buena calidad, es necesario tomar en cuenta los siguiente puntos:

a) Utilizar productos de buena calidad (variedades adecuadas).
b) Buenas prácticas de manejo e higiene.
c) Uso de bajas temperaturas de almacenamiento (5-10°C).
d) También se deben de considerar los métodos adecuados de limpieza.
e) Así como el uso de aditivos en el agua de lavado.

f) Utilizar el método de pelado, cortado y secado apropiados.
g) Optimas condiciones de almacenamiento y comercialización (Ahvenainen, 2000).

Los diferentes métodos desarrollados para inhibir o al menos minimizar los procesos de deterioro tales como el oscurecimiento, suelen ser preventivos. Estos pueden clasificarse en función del componente sobre el cual actúan: enzima, substrato, disponibilidad de O_2 o sobre los productos de oxidación, según el tipo de control que ejerzan (inhibición química y/o física).

Muchas técnicas físicas y químicas tales como las películas comestibles, desinfección, aplicación de compuestos naturales, absorbedores de etileno, irradiación gamma y tratamientos térmicos, han sido estudiados como una alternativa potencial aunado con el EAM para mantener la calidad y prolongar la vida de anaquel en frutos cortados (Watada y Qi, 1999; Gorny, 2001).

Físicos

Aunque algunos tratamientos químicos son muy efectivos para mantener la calidad en frutos y vegetales cortados, su uso está disminuyendo debido a que el consumidor está exigiendo productos libres de agentes químicos. Por ello existe un creciente interés en el uso de tratamientos físicos alternativos a los químicos, para mantener la calidad y el valor nutritivo en frutos y vegetales enteros y cortados (Artés, 1995). A continuación se mencionan los principales tratamientos utilizados para la conservación de frutos y vegetales cortados.

Refrigeración. El uso de bajas temperaturas es uno de los métodos de conservación más utilizado para retrasar el deterioro e inhibir las enzimas responsables del oscurecimiento, de manera que se preserve la calidad del producto (Artés, 1995). Por ello, la conservación debe hacerse a temperaturas

inferiores a 5°C, para inhibir el desarrollo de agentes patógenos, el oscurecimiento del tejido y otros procesos metabólicos indeseables que aceleren la pérdida de calidad del producto (Heimdal y col., 1995). Bett y col. (2001), encontraron que en frutos cortados de manzana al ser almacenados por 14 días a 1°C, los azúcares permanecían constantes, el pH decrecía y el sabor se mejoraba. Por otro lado, Gorny y col. (1998), al estudiar el efecto de 3 temperaturas de almacenamiento a 0, 5 y 10°C en frutos cortados de durazno y nectarina, encontraron que se prolongaba la vida de anaquel por 2 y 4 días a la temperatura de 0°C. Estos mismos autores en el (2001), encontraron que se extendía la vida de anaquel por 2 días en frutos cortados de pera, al almacenarlas en una atmósfera controlada (2% O_2 + 98% N_2) a -1°C. Tano y col. (1999), encontraron que el uso combinado de bajas temperaturas (4°C) y envasado en champiñones cortados, mantenía el color, la firmeza y reducía la pérdida de peso.

Tratamientos térmicos. Se ha observado que el empleo de temperaturas moderadas inhibe el oscurecimiento enzimático. Por ejemplo, los tratamientos a 45°C durante 120 s, 50°C durante 60 s ó 55°C durante 30 s, aplicados antes de la conservación a bajas temperaturas, inhiben la actividad de la enzima PAL y la síntesis de metabolitos fenólicos. A la vez reducen la actividad de la PPO y el oscurecimiento en lechuga cortada (Kim y col., 1993; Loaiza-Velarde y col., 1997; Loaiza-Velarde y Salveit, 2001). Kim y col. (1994), encontraron que la inmersión de frutos cortados de manzana en agua a 45°C por 105 minutos previo almacenamiento a 2°C, se mantenía la firmeza por 8 días más con respecto al control.

Irradiación. La irradiación en frutos y vegetales cortados, puede ser benéfica ya que su empleo reduce el número de bacterias presentes en el producto. La FDA limita la irradiación a 1.0 kGy para frutos y vegetales, pero esta no destruye hongos y levaduras, por lo que son necesarios niveles de 1.5-20 kGy, pero

causan daño al tejido del fruto (Brackett, 1987). La irradiación reduce la producción de etileno y todos los procesos post-climatéricos en rodajas de manzana al aplicarles una dosis por encima de 2.4 kGy. Por lo tanto, el uso de la irradiación para prolongar la vida de anaquel en frutos y vegetales cortados, está limitada ya que solamente elimina las bacterias presentes, pero no el crecimiento de mohos y levaduras (Gunes y col., 2000).

Envasado en atmósferas modificadas (EAM) y controladas (AC). En la última década se ha disparado la producción de frutos cortados por encima de 6 billones de pesos en los EUA (Reyes, 1996). El crecimiento explosivo de la industria de los frutos y vegetales cortados, se ha debido en parte a las innovaciones del EAM. Por otro lado, la clave para un uso exitoso de una tecnología de envasado, es elegir los materiales de empaque adecuados.

La AM óptima para cada producto cortado es diferente uno de otro, así como de los productos enteros esto debido a los cambios fisiológicos ocurridos durante el procesamiento. Un buen ejemplo, es la lechuga cortada la cual soporta altos niveles de CO_2, mientras que entera no tolera altos niveles de este gas. Por otro lado, lechugas cortadas envasadas en una atmósfera de CO_2 de 10 a 15% ayuda a prevenir el oscurecimiento en la superficie del producto (Gorny, 1997).

Debido a que la presencia de O_2 es necesaria para que se lleven a cabo las reacciones de oscurecimiento y deterioro, una de las formas de inhibir dicha reacción es evitando que el O_2 entre en contacto con el producto. En la actualidad, para la conservación y distribución de frutos y vegetales cortados, resulta imprescindible la utilización del EAM. Esta consiste en guardar los productos en refrigeración en una atmósfera baja en O_2 y enriquecida en CO_2 (Gil y col., 1996). El EAM inhibe o reduce las reacciones enzimáticas responsables del oscurecimiento. Al aumentar la concentración de CO_2 se inhibe la síntesis de

metabolitos fenólicos, sustratos de la PPO que han sido inducidos como consecuencia del daño producido por el corte (Mateos y col., 1993).

Los frutos y vegetales cortados son más perecederos y susceptibles al deterioro que los productos enteros. El EAM en combinación con un buen manejo de temperatura, puede extender significativamente la vida de anaquel de muchos frutos y vegetales cortados reduciendo: (1) pérdida de agua, (2) oscurecimiento en la superficie del corte, (3) tasa de respiración del producto, (4) biosíntesis y acción del C_2H_4 y (5) el crecimiento microbiano. El EAM en los productos cortados crean un medio que extiende la vida de anaquel del producto.

1. *Reducción de la pérdida de agua.* Uno de los grandes beneficios del EAM es mantener una alta humedad relativa en el medio donde se encuentre el producto. Durante el procesamiento de frutos y vegetales cortados, son destruidas algunas barreras naturales que evitan la pérdida de agua, dejando los productos susceptibles a la deshidratación. La selección de un apropiado material de envase, así como del método de procesamiento adecuado ayuda a reducir significativamente el desarrollo de daños prolongando de esta manera la vida de anaquel del producto. Por ejemplo, el envasado con bolsas flexibles y bandejas con cubiertas rígidas con películas flexibles, reduce significativamente la pérdida de agua en frutos cortados creando un medio con una humedad relativa cerca del 100%. Sin embargo, la condensación del agua dentro del empaque puede promover el crecimiento de microorganismos. Este problema puede ser eliminado seleccionando una película flexible con una apropiada transmisión de vapor de agua y/o incorporando aditivos antimicrobianos.
2. *Reducción del oscurecimiento en la superficie del corte.* Las condiciones de baja concentración de O_2 y una elevada concentración de CO_2 en EAM se debe a que el producto cortado consume O_2 y libera CO_2 dentro del envase. Las concentraciones de O_2 y CO_2 en el envase se determinan por el

consumo de O_2 y la evolución promedio de CO_2 del producto. Un rápido establecimiento de una baja concentración de O_2 y/o elevado CO_2 dentro del envasado con frecuencia es crítico para la prevención del oscurecimiento en la superficie del corte en los productos cortados. La modificación de la atmósfera se emplea con frecuencia para establecer rápidamente las condiciones de baja concentración de O_2 y elevado CO_2, dentro del envase del producto cortado. Por ejemplo, en vegetales cortados de lechuga y papa casi siempre se envasan en condiciones de gas nivelado o envasado al vacío para lograr rápidamente, atmósferas de menos de 1% de O_2 y disminuir el oscurecimiento causado por la PPO (Cantwell, 1996; Gurburz y Yee, 1997; Ballantyne y col., 1988). Vegetales cortados de lechuga son envasados en atmósferas de ≥ 10% de CO_2 para inhibir la biosíntesis de enzimas que provocan el oscurecimiento (Mateos y col., 1993). Aunque bajas concentraciones de O_2 y elevadas CO_2 son muy efectivas para reducir el oscurecimiento en vegetales cortados de lechuga, esto no es adecuado para otro tipo de producto cortados (Gorny y Kader, 1996; Gil y col., 1997). Esto se debe al hecho de que los substratos fenólicos durante el oscurecimiento oxidativo por la PPO, son muy abundantes en frutos, y las atmósferas elevadas de CO_2 no limita lo suficiente la biosíntesis de fenoles para inhibir efectivamente el oscurecimiento. Por lo tanto, es necesaria la reducción de los niveles de O_2 cerca de 0% para inhibir el oscurecimiento ocasionado por la PPO en algunos productos cortados.

3. *Reducción de la respiración.* Si se reduce el O_2 y se eleva el CO_2 la atmósfera puede prolongar la vida de anaquel de los productos cortados reduciendo su respiración. Sin embargo, el EAM debe considerarse solo un suplemento al uso de bajas temperaturas, ya que éstas tienen un mayor efecto en la respiración del producto. El EAM es utilizado para mantener concentraciones específicas de O_2 y CO_2, y designar las temperaturas de almacenamiento óptimas para mantener un rango específico dentro del envase. Si se alcanzan

las temperaturas esperadas, pero se observan bajos niveles de O_2 y/o elevados niveles de CO_2, se puede tener una reducción significativa en la vida de anaquel. Esto debido a la inducción del metabolismo fermentativo y al del crecimiento de bacterias ácido lácticas, los cuales causan sabores y olores desagradables en el producto (Carlin y col., 1990).

4. *Reducción de la biosíntesis y acción de C_2H_4.* Bajas concentraciones de O_2 (< de 5% y una elevada de CO_2 > del 5%) inhiben significativamente los efectos del C_2H_4, lo cual reduce la senescencia del tejido. El daño del tejido ocasionado por el pelado, cortado y picado o daños físicos inducen rápidamente la biosíntesis de C_2H_4. Por lo tanto, un establecimiento de una baja concentración de O_2 y una elevada de CO_2 dentro del envasado de los productos cortados, reducirá los efectos de los daños inducidos por la biosíntesis de C_2H_4. Se han realizado numerosos intentos industriales para incorporar materiales absorbentes de C_2H_4 dentro del envasado de películas flexibles, con la esperanza de extender significativamente la vida de anaquel de frutos y vegetales cortados. Sin embargo, esta estrategia pudiera ser redundante dado que la baja concentración de O_2 y/o elevada de CO_2 dentro del EAM, disminuye significativamente la producción y efectos del C_2H_4.
5. *Reducción del crecimiento microbiano.* La reducción de O_2 y/o elevación de CO_2 dentro del EAM inhibe el crecimiento de varios microorganismos, los cuales proliferan sobre el producto fresco cortado. Las altas concentraciones de CO_2 (≥ a 10%), tienen un efecto fungicida en el sistema de EAM (Wells y Uota, 1970), reduce el deterioro del tejido y mejora la resistencia al deterioro microbiano. El EAM con bajos niveles de O_2 tiene un potencial de seguridad de tolerancia al riesgo del crecimiento del *C. botulinum* en frutos cortados, esto debido a que en algunos casos se logran condiciones anaeróbicas y esta acidez del producto evita el crecimiento de microorganismos (Sugiyama y Rutledge, 1978; Zagory y col., 1989).

En productos cortados se suele recomendar concentraciones de O_2 entre 2 y 8% para evitar el oscurecimiento y prolongar la vida de anaquel (Ahvenainen, 1996). El empleo de atmósferas inapropiadas pueden reducir la calidad, producir olores desagradables y ocasionar el oscurecimiento (Mateos y col., 1993). Las concentraciones óptimas de CO_2 recomendadas varían entre el 5 y el 15%, dependiendo del producto. En general, los frutos cortados suelen ser más sensibles a concentraciones elevadas de CO_2 que los vegetales y producir el oscurecimiento como consecuencia de los daños producidos por el CO_2 (Gorny y col., 1998).

Químicos

Estos métodos consisten en la utilización de inhibidores químicos que interaccionan directamente con las enzimas o sus sustratos. Sin embargo, aunque algunos son muy eficaces para inhibir el oscurecimiento enzimático, aún no han sido autorizados por la legislación sanitaria para el uso alimentario. En algunos países, sólo son autorizados, con límites más o menos estrictos, el AA y sus derivados, el ácido cítrico y los cloruros de sodio y potasio como aditivos químicos más importantes (McEvily, 1991).

Lavado con cloro. El cloro es comúnmente utilizado como desinfectante en frutos y vegetales cortados. Sin embargo, en algunos frutos el empleo de éste trae como consecuencia, la producción de olores desagradables (Ayhan y col., 1998). En general, los frutos y vegetales cortados deben lavarse después del cortado con agua fría (0-1°C) clorinada (50-200 ppm) con un pH menor de 7. Esto ayuda a extender la vida de anaquel del producto ya que: se reduce la carga microbiana, se remueve el exceso de jugo celular presente en la superficie del corte, el cual puede promover el oscurecimiento. De la misma

manera se inhiben las reacciones enzimáticas involucradas en el oscurecimiento del fruto (Brecht y col., 1993; Hurst, 1995).

El cloro, es comúnmente usado para la desinfección de vegetales frescos cortados, pero no es conveniente para todos los frutos frescos cortados. El lavado y/o inmersión en soluciones de cloro después del cortado, puede incrementar la actividad de agua y producir malos olores. Se ha encontrado, que la aplicación de hipoclorito (pH 6, 50 ppm) en piezas de melón "Honeydew" y "Cantaloupe", envasadas en una atmósfera de 95% N_2 + 5% O_2 no se observaron daños fisiológicos y la cuenta microbiana disminuyó durante el almacenamiento (Ayhan y col., 1998). En general, son más los beneficios que se obtienen en la calidad y vida de anaquel de frutos y vegetales cortados al emplear el cloro como desinfectante de los mismos.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un fuerte agente oxidante y un potente esterilizante al ponerse en contacto en la superficie. Investigaciones recientes, han demostrado que el peróxido de hidrógeno puede reducir la población microbiana en la superficie de muchos productos al aplicarse antes o después del procesado (Sapers y Simmons, 1998).

Antioxidantes. Muchos frutos y vegetales después del cortado tienden a tomar colores indeseables y perder su calidad. El oscurecimiento enzimático, causado por la reacción de la PPO en presencia de O_2 y sustratos (fenoles), es uno de los principales problemas durante la preparación de frutos y vegetales cortados (Sapers y Miller, 1998). Los sulfitos se han utilizado durante mucho tiempo para prevenir el oscurecimiento y deterioro. Sin embargo, su uso tiene algunas desventajas, ya que pueden ocasionar daños o efectos secundarios en personas que padecen asma. Es por esta razón que en EUA la Asociación de Drogas y Alimentos (FDA) restringió su uso y esto incrementó el interés de buscar nuevas alternativas a los sulfitos para prevenir el oscurecimiento en frutos y vegetales (Howard y col.,1994).

Actualmente, se ha encontrado que el uso de ciertos compuestos tales como: el ácido cítrico, AA, AIA, eritorbato de sodio (ES), HR, AC, sorbato de potasio (SP), solos o en combinación inhiben el oscurecimiento y mantienen la calidad en frutas y vegetales cortados (Buta y col., 1999; Buta y Abbott, 2000; González-Aguilar y col., 2000). Se ha observado que la AC inhibe el oscurecimiento. Sus posibles mecanismos de reacción son como secuestrador de radicales libres en las primeras etapas del oscurecimiento, inhibir directamente la actividad de la enzima al ocupar su sitio activo y la de reaccionar con las quinonas y formar compuestos estables e incoloros (Namiky y Hayashi, 1982; Valero y col., 1992; Koh y col., 1996) (Figura 2). Se ha reportado que la AC es muy efectiva para inhibir la actividad de PPO causante del oscurecimiento en papas, manzanas y peras cortados (Gunes y Lee, 1997; Sapers y Miller, 1998 Molnar-Perl y Friedman, 1990).

Por otra parte el AA y AIA también se emplean para reducir el oscurecimiento. Estos compuestos han recibido una particular atención debido a sus múltiples efectos ya que inhiben el oscurecimiento por su habilidad de reducir las quinonas a sus correspondientes fenoles (reductores), actúan como agentes quelantes (al atrapar los iones cobres, necesarios para que la PPO actué) y al parecer actúa como un inhibidor competitivo de la PPO (Whitaker, 1972; McEvily y Iyengar, 1992; Wacayama, 1995; Jang y col., 2002) (Figura 2). Algunos derivados de resorcinol (HR) han mostrado ser excelentes inhibidores del oscurecimiento en frutas y hortalizas, especialmente en manzanas y peras (McEvily y col., 1991; Monsalve-González y col., 1993; Monsalve-González y col., 1995; Luo y Barbosa-Cánovas, 1996, 1997; Sapers y Miller, 1998; Buta y Abbott, 2000; Dong y col., 2000).

El AA al 1% es más efectivo que el ácido eritórbico para prevenir el oscurecimiento en frutos cortados de manzana, almacenadas por 24 horas a temperatura ambiente (Sapers y Zoilkowsky, 1987). La aplicación de 1 o 2.5% de ácido cítrico + 0.25% de AA reduce el oscurecimiento de rodajas de

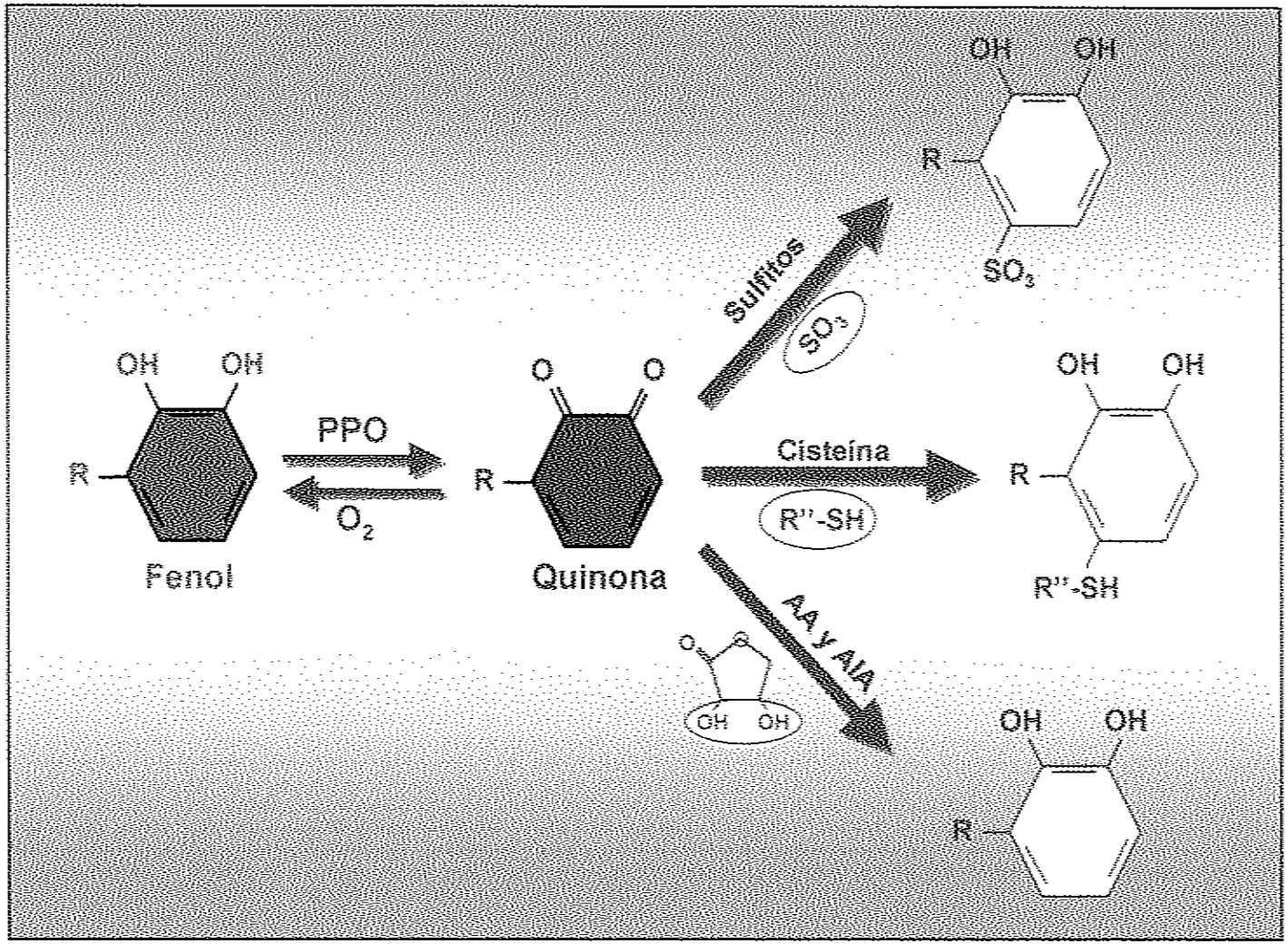


Figura 2. Oscurecimiento enzimático: Reacciones de los sulfitos, AC, AA y AIA para inhibir el oscurecimiento enzimático, provocado por la PPO (Labuza y col., 1992; McEvily y col., 1992; Wacayama, 1995).

carambola al ser almacenadas al vacío a 4.4°C (Weller y col., 1997). El calcio en combinación con el AA al 1%, fue altamente efectivo en prevenir el oscurecimiento en frutos cortados de manzana (Ponting y col., 1972) y peras (Rosen y Kader, 1989; Gorny y col., 1998a). El oscurecimiento también puede ser reducido al almacenar (6 días a 0°C) frutos cortados de durazno tratados con 1% de lactato de calcio + 2% de ácido ascórbico (Gorny y col., 1999).

En otros estudios, se ha encontrado que la combinación de 0.01% de 4-hexil resorcinol (HR), 0.5% de AA y 1% de lactato de calcio extiende la vida de anaquel de frutos cortados de pera "Anjou", "Bartlett" y "Bosco" por 15 a 30 días (Dong y col., 2000). De igual manera, la combinación de 0.001 M de HR, 0.5 M de AIA, 0.05 M de sorbato de potasio y 0.025 M de N-acetilcisteína (AC), retarda el oscurecimiento por 14 días en frutos cortados de pera (Buta y Abbott, 2000).

Por otro lado, se ha reportado que el uso de HR, AIA, N-AC y propionato de calcio en rodajas de manzanas previo almacenamiento a 5°C por 4 semanas mantiene la calidad, ácidos orgánicos e inhibe el oscurecimiento (Buta y col., 1999). El análisis de ácidos orgánicos y azúcares revelan que las rodajas tratadas con la combinación de estos compuestos mantienen altos los niveles de ácido málico y no se deterioran los niveles de azúcares a 5 y 10°C, indicando que se mantiene una alta calidad durante el periodo de almacenamiento. De la misma forma, se encontró que la aplicación de HR, AA, sorbato de potasio en combinación con el EAM mantenían el color y las características sensoriales por 14 días de frutos cortados de mango almacenados a 10°C (González-Aguilar y col., 2000).

Gorny y col. (1999), encontraron que la aplicación de lactato de calcio + AA inhibían el oscurecimiento y se mantenía la calidad en frutos de durazno y nectarina cortados, almacenados a 0°C. Por otro lado, la aplicación de AC y N-AC en rodajas de plátano almacenados a 5°C, mantiene la calidad e inhibe el oscurecimiento y deterioro (Moline y col., 1999).

Se ha reportado que los aminoácidos que contienen el grupo tiol como la cisteína, son muy efectivos para inhibir la PPO responsable del oscurecimiento enzimático en frutos y vegetales (Molnar-Perl y Friedman, 1990). Se ha observado que el uso de cisteína inhibe completamente el oscurecimiento enzimático en frutos cortados de papa (Gunes y Lee, 1997). Se han propuesto tres mecanismos para explicar el modo de acción de los compuestos que tienen el grupo tiol: 1) reducir las o-quinonas a o-dihidroxifenoles 2) inhibir directamente la PPO y 3) formar quinonas incoloras (Wiley, 1994).

Recientemente, Gorny y col. (2001), encontraron que la aplicación de AA al 2%, lactato de calcio al 1% y 0.5% de cisteína, mantuvo la firmeza, previno el oscurecimiento en la superficie del corte y extendió significativamente la vida de anaquel de frutos cortados de peras "Bartlett".

Se ha reportado, que la combinación de AA y HR es muy efectivo para inhibir el oscurecimiento en muchos frutos cortados como: manzanas, plátanos y peras (Monsalve-Gonzáles y col., 1993; Luo y Barbosa-Canovas, 1996; 1997; Sapers y Miller, 1998; Moline y col., 1999; Buta y Abbott, 2000, Dong y col., 2000). Se ha encontrado que 1 a 7 ppm de HR es necesario para prevenir el oscurecimiento en frutos cortados de pera almacenados por 14 días a 2 y 5°C (Dong y col., 2000). Aunque el HR es efectivo para prevenir el oscurecimiento, aún no ha autorizado su uso por la FDA de los EUA. Sin embargo, se ha observado que el HR también puede impartir malos sabores a algunos frutos.

De acuerdo a los antecedentes bibliográficos, existen pocos estudios en frutos cortados de origen tropical y subtropical. Es por ello que es necesario explorar nuevas alternativas de conservación, en especial los antioxidantes naturales con el fin de reducir los problemas de oscurecimiento y deterioro que se tienen actualmente en estos productos.

Para el caso específico de piña cortada, hemos encontrado sólo un reporte, donde se estudió el uso de antioxidantes en rodajas de piña para inhibir el oscurecimiento (Lambrecht, 1995). Sin embargo, la temperatura de

almacenamiento de este estudio fue de 0°C, la cual corresponde a temperaturas muy cercanas a la congelación. Por lo que estudiar la efectividad de diferentes antioxidantes a temperaturas superiores, con el fin de conservar la calidad de rodajas de piña por un tiempo suficiente (10-14 días), es de gran importancia para los productores de piña, ya que se les abriría un nuevo nicho de mercado a nivel nacional e internacional, que no ha sido explotado, así como otro medios de distribución y comercialización de dicho producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

En este estudio se utilizaron frutos de piña (*Ananas comosus*) variedad Cayena lisa, los cuales se obtuvieron de una distribuidora de frutas de la localidad (Frutas Finas del Noroeste, S.A. de C.V). Los frutos fueron trasladados al laboratorio de Ciencia y Tecnología de Frutas y Hortalizas del CIAD. En donde, se seleccionaron en base al color (madurez comercial) y el contenido de sólidos solubles (10-12°Brix). Se dividieron en diferentes grupos en forma aleatoria para su tratamiento. Una vez seleccionados los frutos fueron lavados con una solución clorinada de 200 ppm. La Figura 3 muestra el diagrama de flujo que se siguió durante el desarrollo experimental. Inicialmente se tomaron 3 frutos para medir la calidad inicial del producto de acuerdo a las siguientes variables: pH, acidez titulable (AT), sólidos solubles totales (SST), firmeza, color, ácido ascórbico, azúcares, etanol, acetaldehído, fenoles y actividad de PPO. Una vez lavados, los frutos se pelaron manualmente y se cortaron transversalmente, para formar rodajas de 1 cm de espesor. Las rodajas de piña fueron inmersas por 2 minutos en diferentes soluciones de antioxidantes.

El Cuadro 2 muestra los distintos antioxidantes y los rangos evaluados en los estudios preliminares. Estos antioxidantes y sus rangos, fueron seleccionados de acuerdo a los resultados obtenidos en otros frutos cortados. Una vez aplicados estos compuestos y de acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionaron los antioxidantes que disminuyeron en mayor proporción el oscurecimiento y el deterioro de las rodajas de piña, durante el almacenamiento a 10°C.

Una vez obtenidos los resultados, se seleccionó una concentración de los mejores antioxidantes, las cuales incluyeron al AA, AC, y AIA (Cuadro 3). Estas concentraciones arrojaron los mejores resultados en al menos 3 preliminares y fueron las que se utilizaron para llevar a cabo este estudio.

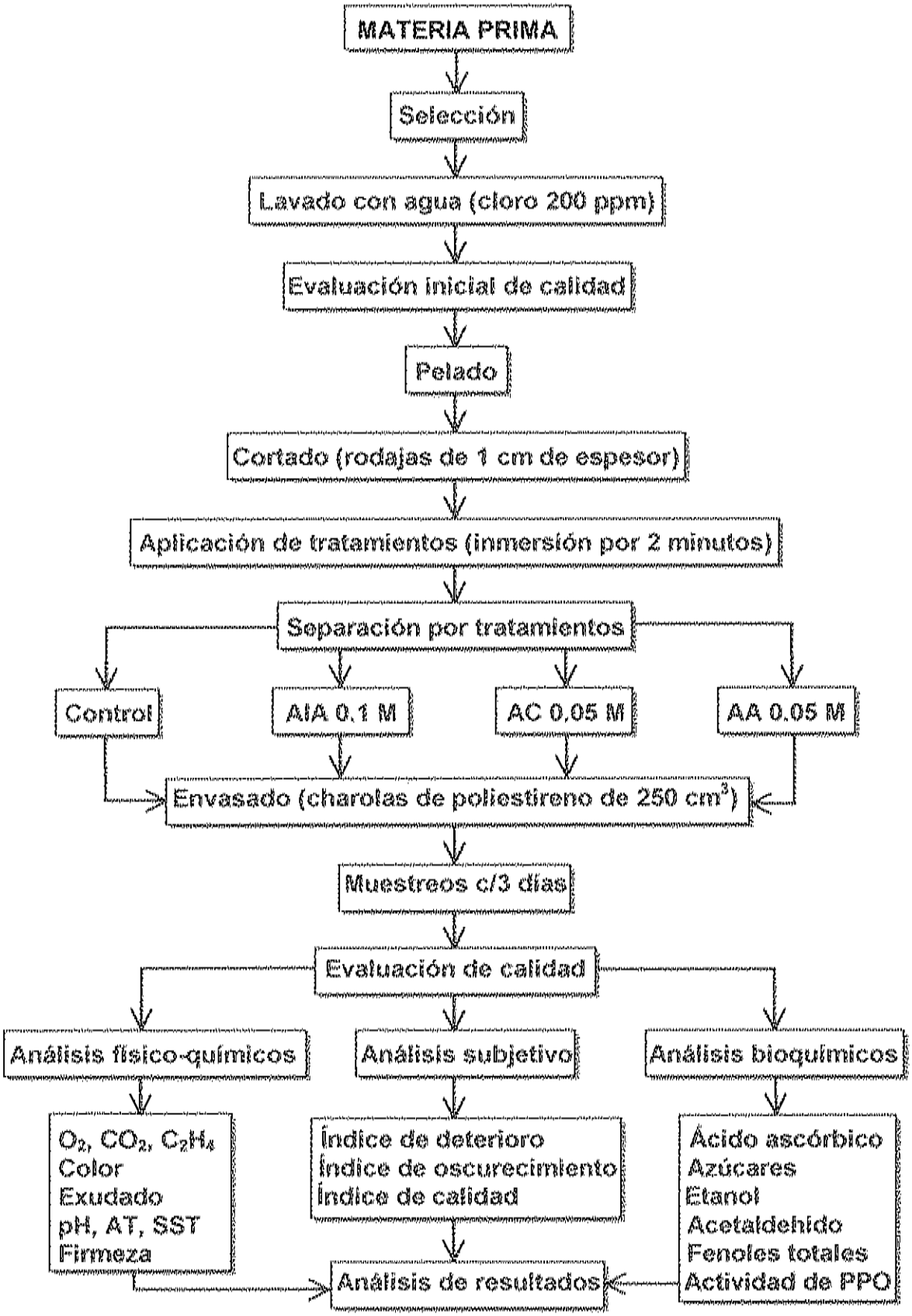


Figura 3. Diagrama de flujo del experimento.

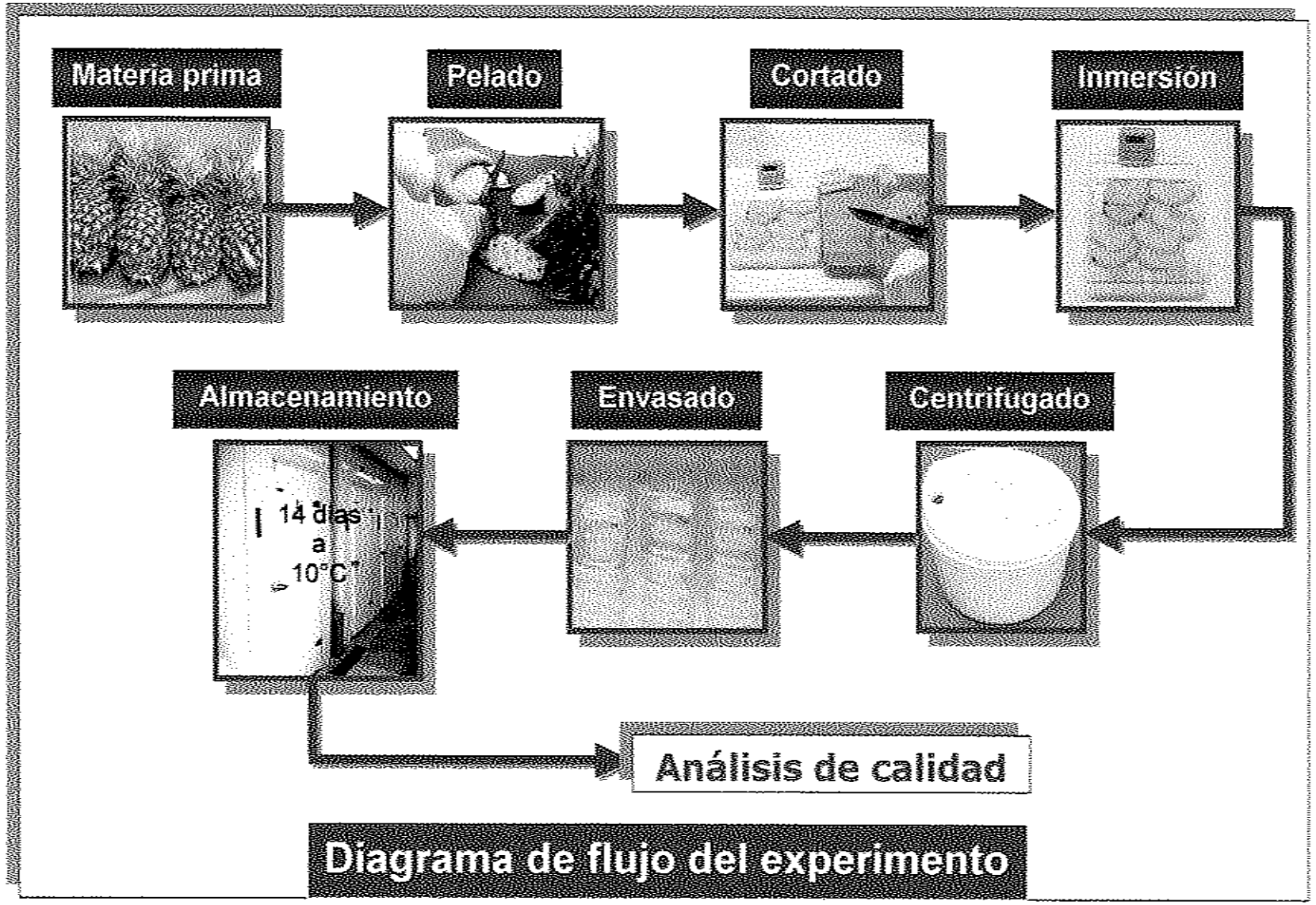


Diagrama de flujo del experimento

Cuadro 2. Agentes antioxidantes y rangos utilizados, durante trabajos preliminares en rodajas de piña fresca, previo al envasado y almacenado a 10°C.

Compuesto	Rango de concentración (M)
1. HR	0.0005 – 0.001
2. AIA	0.05 – 0.1
3. AC	0.025 – 0.01
4. AA	0.05 – 0.1
5. BS	0.01 – 0.1
6. $CaCl_2$	0.01 – 0.05
7. KS	0.01 – 0.05

HR (hexilresorcinol), AIA (ácido isoascórbico), AC (acetilcisteína), AA (ácido ascórbico), BS (benzoato de sodio), KS (sorbato de potasio)

Cuadro 3. Soluciones utilizadas en rodajas de piña, previo al envasado y almacenamiento a 10°C.

Tratamiento	Concentración (M)
1. Control	Agua
2. AIA	0.1
3. AC	0.05
4. AA	0.05

Después de la inmersión en las diferentes soluciones, las rodajas se centrifugaron por 30 s, para eliminar el exceso de líquido en la superficie del producto. Posteriormente, se envasaron en charolas de poliestireno de 250 cm^3. En cada charola se colocaron 2 rodajas, se utilizaron tapas del mismo material y los bordes se sellaron con una película autoadherible. Una vez envasadas, se almacenaron por 14 días a 10°C. Para el control se utilizó agua destilada. Se utilizaron 60 repeticiones (charolas) por tratamiento.

Se tomaron, 6 charolas/tratamiento, para medir los cambios de la atmósfera dentro del envase (O_2, CO_2 y C_2H_4), donde a estas mismas charolas se les siguió el comportamiento durante todo el almacenamiento. De igual manera, se tomaron 5 charolas/tratamiento, para seguirles el comportamiento del color (*L, a y b*), a los cuales se les tomó lectura en dos puntos de cada rodaja/charola durante el almacenamiento a 10°C. Después de 7 y 14 días de almacenamiento a 10°C, se tomaron 5 charolas de cada tratamiento, para evaluar los cambios de calidad. Primeramente, se evaluó subjetivamente la calidad, así como el índice de oscurecimiento y deterioro. A intervalos de 3 días se utilizaron 3 charolas (6 rodajas) para medir el porcentaje de exudado, pH, sólidos solubles totales (°Brix) y acidez titulable. De otras 3 charolas se tomó muestra para medir el contenido de ácido ascórbico (5 de 10g), contenido de azúcares (Fructosa, Glucosa y Sacarosa) (5 de 10g). De otro lote de 2 charolas se midió los cambios en firmeza en 3 puntos/rodaja. De la misma forma, se utilizaron 3 charolas para tomar muestras para el análisis de etanol, acetaldehído, los cuales se utilizaron muestras de 5 g (5 repeticiones) en viales de vidrio y se almacenaron inmediatamente a -20°C. Para el análisis de fenoles se tomaron 5 muestras de 10 g y para PPO 5 muestras de 20 g y se almacenaron a -40°C hasta su análisis.

Evaluaciones Físico-Químicas

Composición de la Atmósfera Dentro del Envase (O_2, CO_2 y C_2H_4)

Para medir el contenido de O_2, CO_2 y C_2H_4, se tomó una muestra (1mL) del espacio de cabeza del envase (6 charolas por tratamiento), usando una jeringa hipodérmica. Posteriormente se inyectó a un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 Cx con un detector de ionización de flama (FID) y conductividad térmica (TCD). Se utilizó una columna Haysep N de 2 m de longitud, con diámetro externo de 1/8 plg, 80/100 µm de tamaño de partícula y utilizando N_2 como gas acarreador. Las condiciones de la corrida fueron: temperatura de la columna (50°C), temperatura del TCD (170°C), temperatura del filamento (205°C) y temperatura del inyector (70°C). Las concentraciones de los estándares empleados fueron O_2 25%, CO_2 5% y 1 ppm de C_2H_4. Para determinar la concentración de cada gas, se integró el área bajo la curva y éstas se compararon con las áreas de los estándares conocidos.

Color (L^* y b^*)

Los parámetros de color (L^*, y b^*) fueron medidos en la superficie de la rodaja de piña (aproximadamente a 2 cm del borde), utilizando un colorímetro portátil Minolta CR-300 (Saper y Douglas, 1987). El valor "*L*" representa colores negros u opacos (0) y colores blancos o de máxima brillantez (100). El valor "*a*" va de la escala positiva a la negativa siendo el rojo el máximo cuando los valores son positivos, gris cuando es cero y verde cuando es mínimo o si los valores son negativos. El valor "*b*", determina el color amarillo si los valores son positivos, gris cuando es cero y azul cuando es negativo. Se evaluaron 5 charolas/tratamiento (2 mediciones rodaja/charola). Se realizaron 20 repeticiones para cada tratamiento.

Porcentaje de Exudado por Compresión

Para medir el porcentaje de exudado se empleó el método descrito por Carlin y col., (1990). Se tomaron 3 charolas/tratamiento, donde cada ½ rodaja de piña fué colocada entre dos papeles filtro y se le aplicó una fuerza de 2 kg por 10 s, posteriormente fueron pesados los papeles filtro. Se realizaron 6 repeticiones para cada tratamiento. Para calcular el porcentaje de exudado se utilizó la siguiente fórmula

$$\% \text{ exudado} = (\text{g exudado} / \text{g muestra}) \times 100$$

Firmeza

Se determinó en un Texturómetro Analyzer, TA-XT2 utilizando una cuchilla de acero inoxidable para medir la fuerza necesaria para cortar el tejido. Se realizaron 3 repeticiones por rodaja. Los resultados se expresaron como promedio de 12 mediciones por tratamiento y se expresaron en Newton.

Sólidos Solubles Totales

Se obtuvieron a partir de tomar 6 muestras, colocando una gota del extracto en un refractómetro "Abbe" (American Optical Co. Modelo 10450, U.S.A) a 25°C. El cual fué previamente calibrado con agua destilada para medir el índice de refracción de la muestra en función de los sólidos solubles presentes, de acuerdo a la técnica propuesta por la A.O.A.C. (1990). La concentración de sólidos solubles se expresó en °Brix.

Acidez Titulable y pH

Para éstas determinaciones se empleó la metodología propuesta por la AOAC, (1990). A partir de una alícuota de 10 mL de jugo de piña, el cual fué homogenizado en 40 mL de agua destilada. La determinación de pH y acidez titulable se efectuaron directamente del homogenizado, los cuales fueron valorados con una solución de NaOH 0.1 N en un titulador automático Mettler modelo DL 21. Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento.

Evaluaciones Subjetivas

La calidad de las rodajas de piña se evaluaron subjetivamente de acuerdo a una escala descrita por Mercado-Silva y col., (1998). Estas evaluaciones, fueron realizadas por el grupo de 8 panelistas. Es importante señalar que para llevar a cabo estas evaluaciones, durante los experimentos preliminares se fueron ajustando las escalas para nuestro producto. Se tomaron 5 charolas/tratamiento, a las cuales se le evaluó lo siguiente:

Índice de Deterioro, Calidad y Oscurecimiento

El índice de deterioro fué evaluado en base a una escala de 1-5 donde, 1 = ninguno, 2 = ligero (mayor de 5% de superficie afectada), 3 = moderado (del 5-20% de superficie afectada), 4 = severo (20-50% de superficie afectada), 5 = extremadamente severo (mayor del 50% de superficie afectada).

El índice de calidad fué evaluado empleando una escala de 1-9, donde 9 = excelente, sin defectos (fruto fresco), 7 = bueno, defecto ligero (muy bueno), 5 = mediana (límite de mercadeo), 3 = pobre (límite de consumo), 1 = no

consumible. Los defectos menores fueron atribuidos a los cambios de color y los defectos mayores fueron atribuidos al deterioro.

El oscurecimiento fué evaluado basándose en una escala de 1-5, donde 1 = ninguno, 2 = ligero, 3 = moderado, 4 = severo, 5 = extremadamente severo.

Evaluaciones Bioquímicas

Ácido Ascórbico

La determinación de AA se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Doner y Hickts (1981). Para la extracción se utilizaron 10 g de pulpa, los cuales se homogeneizaron por 2 minutos con 50 mL de una solución de ácido acético glacial y ácido metafosfórico (Sigma Chemical Co.) (80 mL/30 g /L). Se filtró en tela de organza y se centrifugó (4°C) por 15 minutos a 10,000 rpm en una centrífuga Beckman Coulter, Allegra 64R. El sobrenadante se filtró en papel filtro de 22 µm. Posteriormente, se tomaron 10 µL y se inyectaron a un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) Varian 9012. Se empleó una columna Waters-NH2 tipo µBondapak de 3.9 x 300 mm de diámetro y longitud con 10 µm de tamaño de partícula. Se utilizó una velocidad de flujo de 1.5 mL/min y una fase móvil acetonitrilo-fosfato de potasio (Sigma Chemical Co.) (75:25 v/v). El tiempo de duración de la corrida fué de 15 min. La detección se realizó con un detector UV-VIS Varian 9050, a una longitud de onda de 268 nm. El área se comparó con estándares conocidos. Se realizaron 6 repeticiones para cada tratamiento. Para cuantificar se utilizó una curva estándar de ácido ascórbico (Sigma Chemical Co.) con un rango de concentración de 0 a 800 mg/mL.

Azúcares

Para la determinación de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa), se empleó el método descrito por Smith y col, (1986). Para la extracción se utilizaron 10 g de muestra, los cuales se homogeneizaron con 50 mL de agua y se llevó a ebullición por 15 minutos. Se filtró en tela de organza y se centrifugó a una temperatura de 25°C por 15 minutos a 2500 rpm en una centrífuga Beckman Coulter, Allegra 64R. El sobrenadante obtenido fue filtrado en papel de 22 µm. Del extracto, se tomaron 10 µL y se inyectaron a un equipo de Cromatografía Liquida de Alta Presión (HPLC) Varian 9012. Se empleó una columna uBondapak/Carbohydrate de 30 cm de largo x 3.9 mm de diámetro interno; con una velocidad de flujo de 1.5 mL/min y fase móvil de acetonitrilo-agua (80:20 v/v) y tiempo de la corrida de 15 minutos. La detección se realizó en un detector UV-VIS Varian 9050, a una longitud de onda de 192 nm. Los estándares comparados para cada carbohidrato fue al 4% (p/v). Se realizaron 6 repeticiones por tratamiento. Para cuantificar se utilizó una curva estándar de azúcares: fructosa, glucosa y sacarosa (Sigma Chemical Co.) con un rango de concentración de 0 a 40 mg/mL.

Etanol y Acetaldehído

Para la determinación de éstos se siguió la técnica descrita por Davis y Chace, (1969). Se utilizaron 5 g de tejido, los cuales se colocaron en viales de vidrio ámbar con capacidad de 20 mL, provistos de un septum de teflón. Se calentaron a 65°C en un baño con temperatura controlada (Serie 180 Precisión Scientific; Chicago Illinois) por 15 min. Posteriormente, se tomó 1 mL del espacio de cabeza con una jeringa hipodérmica y se inyectó a un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 CX, provisto de una columna Cromosorb 101 80/100 de 2 m de longitud. Se utilizó N_2 como gas acarreador. Para calcular la concentración de éstos se obtuvo el área bajo la curva obtenida en el cromatograma y éstas se

compararon con curvas de estándares conocidas. Los resultados se expresaron en µL de etanol o acetaldehído/g de peso fresco. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento. Para cuantificar se utilizó una curva estándar de los dos compuestos: etanol (J.T. Baker Co.) y acetaldehído (Fluke Chemical Co.), utilizando concentraciones en el rango de los niveles endógenos encontrados.

Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos se determinaron de acuerdo al método descrito por Singleton y Rossi (1965) y Kahkonen y col, (1999). Se emplearon 5 g de pulpa los cuales fueron homogeneizados con 25 mL de una solución de metanol al 80% (J.T. Baker) y bisulfito de sodio 0.5% (Sigma Chemical Co.) por 40 s. Posteriormente se centrifugó a 4°C por 10 minutos a 5000 rpm. El sobrenadante se filtró en papel Whatman No. 1 y se aforó a 50 mL. Del extracto diluido se tomaron 100 µL y se le añadió 200 µL del reactivo de Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich Co.) y 700 µL de Na_2CO_3 (Sigma Chemical Co.) al 20%, se mezcló y se llevó a 5 mL, para dejarse en reposo por 2 horas. Después dos horas se midió la absorbancia a 740 nm, empleando un espectrofotómetro UV-VIS; Perkin-Elmer, Lambda 3A. El blanco utilizado fue metanol al 80%. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido caféico en mg/g peso fresco. Se calibró con ácido caféico (Sigma Chemical Co.).

Actividad de la Polifenoloxidasa

Se realizaron determinaciones de la actividad especifica de PPO a partir de polvos de acetona, con el fin de eliminar pigmentos, fenoles y otros compuestos que pueden interferir en el análisis.

Para la obtención de los polvos de acetona se pesaron 20 g de tejido, los cuales fueron triturados 1 minuto con un homogenizador Janke-Kunkel (Ultra

Turrax. Tipo T25-SJ, Germany) con 160 mL de acetona fría (-20°C). El tejido triturado se filtró a vacío a través de un embudo Buchner y papel Whatman No. 1 y se lavó 2 veces haciendo pasar acetona fría a través del embudo, manteniendo la muestra en hielo. Al final se obtuvo un polvo fino color crema. Posteriormente, se dejó secar por 12 horas, se pesó y se almacenó a una temperatura de -40°C hasta su análisis.

Para determinar la actividad de la PPO se basó en el método propuesto por Flurkey y Jen, (1978) y Das y col., (1997).

Se realizaron extracciones enzimáticas a partir de la reacción de 0.2 g de polvo de acetona, 1% de polivil popirrolidona (PVPP; Sigma Chemical Co.), 10 mL de una solución de buffer de fosfatos 0.01 M (Sigma Chemical Co.) con KCl 1M pH=7 (Fisher Chemical Co.) y 20 µL de fluoruro de fenil metano sulfonilo (PMSF; Sigma-Aldrich Co.) como inhibidor de las proteasas presentes. El proceso de extracción se efectuó a 4°C con agitación continua por 60 min en un agitador de alícuotas (Thermolyne Speci-Mix, Barnstead-Thermolyne, USA). Posteriormente se centrifugó a 0°C por 30 min y se filtró en papel Whatman No. 1. El filtrado se incubó por 60 min a 25°C. El cambio de absorbancia se basó en la oxidación de un sustrato fenólico catecol 0.5 M (Sigma Chemical Co.), disuelto en buffer de citrato 0.1 M pH=5 (Sigma Chemical Co.). La reacción se llevó a acabo con 150 µL del extracto enzimático + 850 µL de sustrato a 420 nm en un espectrofotómetro UV-VIS; Perkin-Elmer, Lambda 3A, graficándose el cambio de absorbancia en un graficador Perkin-Elmer, R 1000A. 1 unidad de actividad (UA) se definió como el cambio de 0.001 unidades de absorbancia/min. Los resultados de la actividad específica se expresaron como UA/mg de proteína, que para fines prácticos se mencionó como unidades de PPO.

La concentración de proteína se determinó de acuerdo al método descrito por Bradford (1976). Se empleó albúmina de suero bovino (BSA; Sigma Chemical Co.) como estándar de calibración a 595 nm.

Vida de Anaquel

Se llevaron a cabo 7 experimentos durante los meses de Enero, Febrero, Marzo, Junio, Agosto, Octubre y Noviembre, ya que fueron los meses en los cuales se podía contar con la materia prima. Se observó, que los compuestos utilizados presentaban diferente respuestas durante cada época de cosecha y se evaluó la vida de anaquel de las rodajas de piña tratadas con el mejor tratamiento (AIA 0.1 M).

Diseño Experimental

El experimento se llevó a cabo aplicando un diseño en bloques completos al azar, siendo el bloque los días de muestreo y las factores fueron los compuestos antioxidantes evaluados (control, AIA, AA y AC), para esto se tomaron en cuenta 18 variables de respuesta para cada tratamiento con un nivel de significancia del 5% (Montgomery, 1991).

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia de ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico JMP versión 3.1.2 (1995) del Instituto SAS. Posteriormente, al observar diferencias entre los tratamientos se realizó una comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$). El análisis se efectuó considerando las respuestas de cada tratamiento en cada día de muestreo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluaciones Físico-Químicas

Composición de la Atmósfera Dentro del Envase (O_2, CO_2 y C_2H_4)

La Figura 4 muestra los cambios en la atmósfera (O_2 y CO_2) dentro del envase. Se puede observar, que la concentración de O_2 disminuyó rápidamente después de 3 días a 10°C hasta alcanzar niveles entre 13-16%, siguiendo un comportamiento similar en los diferentes tratamientos evaluados, permaneciendo constante hasta el día 9 en los tratamientos de AIA, AC y AA, respectivamente. Se puede observar que la disminución en la concentración de O_2 fue mas pronunciada en los envases conteniendo a los frutos control. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de AC y AA evaluados ($p>0.05$). La menor disminución en los niveles de O_2, podría estar asociada a una mayor actividad metabólica del producto y un adelanto en la senescencia del mismo. Mientras que la presencia de mayores niveles de O_2 dentro del envase, pueden deberse a un efecto positivo del tratamiento en disminuir los procesos de senescencia y deterioro del producto. En general, se ha observado en diferentes productos que los procesos que conllevan a la senescencia, aumentan significativamente la respiración de los mismos (Gorny y col., 1998).

Se encontró que la acumulación de CO_2 siguió un comportamiento similar a la del O_2, en los diferentes tratamientos estudiados. El CO_2 se acumuló más rápidamente en los envases conteniendo los frutos control y coincidió con la reducción de los niveles de O_2. Los niveles de CO_2 alcanzados dentro de los envases fueron entre 2-3%, para todos los tratamientos estudiados. No se observaron diferencias significativas en los cambios del contenido de CO_2 dentro de los envases, entre los tratamientos de AIA y AC al final del almacenamiento ($p>0.05$).

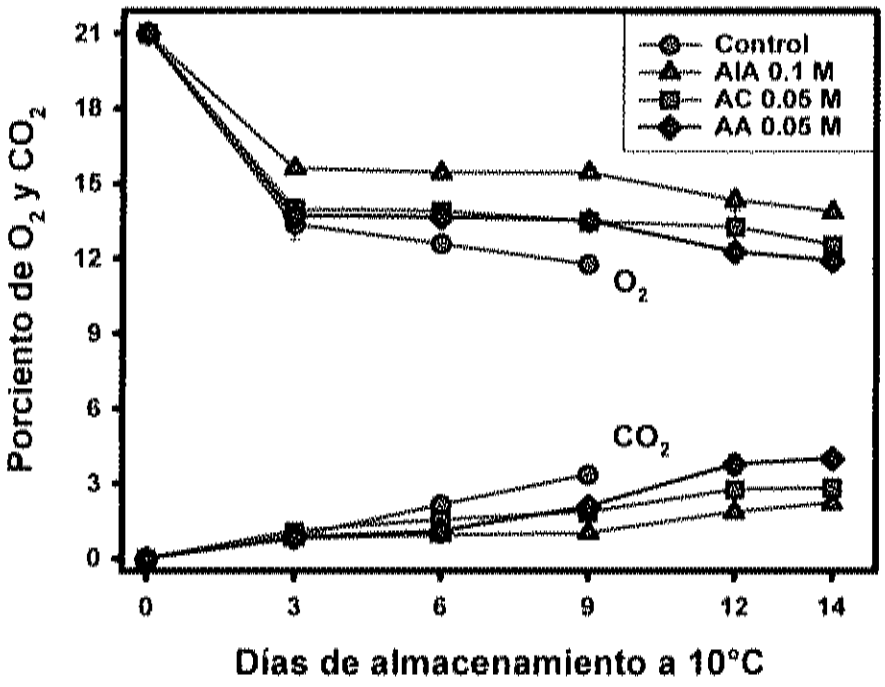


Figura 4. Cambios en la atmósfera O_2 y CO_2 dentro del envase de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

Se ha descrito que la presencia de niveles de CO_2 > 2% puede tener un efecto significativo en los procesos de maduración y senescencia de frutos tropicales (Yahia, 1998). Sin embargo, en frutos cortados, al parecer, no tienen un efecto significativo en los procesos de maduración, debido a que la tolerancia de estos productos a bajos niveles de O_2 y/o altos de CO_2 es muy superior a la de los frutos enteros (Wiley, 1994). Se ha reportado que niveles de O_2 < 2%, puede iniciar los procesos de anaerobiosis del tejido (Weichman, 1987). Sin embargo, Kubo y col. (1996), reportaron que vegetales cortados como pepinos, brócoli, berenjena y coliflor, resisten niveles de O_2 de hasta 1%. Las concentraciones de O_2 a las cuales se puede favorecer la respiración anaerobia, dependen principalmente del tipo del producto, temperatura de almacenamiento y los niveles de CO_2 (Zagory y col., 1989).

Los procesos de pelado y cortado, pueden incrementar hasta en 1.2-7 veces la tasa de respiración del producto cortado (Watada, 1997). En el presente estudio, el cortado no afectó significativamente la tasa de respiración del producto, lo cual se comprobó con los cambios en la atmósfera dentro del envase. Las pequeñas diferencias observadas en los niveles de O_2 y CO_2 dentro de los envases, podrían estar asociadas a las diferencias en el estado de maduración y de calidad del producto. Sin embargo, debido a que el producto utilizado estaba en un estado de maduración comercial (comestible) y la mayoría de los procesos de maduración ya habían sido inducidos, los cambios en la atmósfera dentro del envase, al parecer no tuvieron un efecto significativo en los procesos de senescencia y deterioro del producto. De la misma forma, el almacenamiento a 10°C no modificó considerablemente el metabolismo del fruto.

El mayor efecto benéfico del uso del envase, podría ser la atmósfera saturada de vapor de agua creada dentro del mismo, la cual evitó que el producto presentara síntomas de deshidratación apreciables durante el almacenamiento a 10°C. Este efecto benéfico ha sido observado ampliamente

en diferentes estudios y es una de las principales ventajas que presenta el uso de envases poliméricos, en la conservación de frutos y vegetales enteros y cortados (Watada, 1997; Yahia, 1998, Gorny, 2001).

Es importante señalar que las atmósferas óptimas de los frutos enteros y cortados difieren considerablemente, debido a que los procesos de pelado y cortado, facilitan la difusión de los gases a través del tejido vegetal (Beaudry, 2000; Watkins, 2000). Por esta razón, la vida de anaquel es muy inferior en los frutos cortados que enteros. Sin embargo, altos niveles de CO_2 y bajos de O_2 son dañinos para los productos enteros, pero estos pueden ser utilizados para prolongar la vida de anaquel de los frutos cortados, ya que en general, son mas tolerantes a estas concentraciones y no producen daños considerables en el tejido. Se ha observado que rodajas de zanahoria, almacenadas en una atmósfera baja de O_2 (5%) y CO_2 (3-5%), son más efectivos para evitar el deterioro (Barry-Ryan y col., 2000).

La Figura 5 muestra la acumulación de etileno dentro de los envases conteniendo las rodajas de piña fresca. Después de 6 días a 10°C, no se detectó etileno dentro de los envases en los tratamientos de AIA, AC y AA, pero si en los envases conteniendo a los frutos control. Después de 9 días, fue más evidente la acumulación de etileno en los frutos control seguidos de los frutos tratados con AA. Sin embargo, después de 12 días a 10°C, se observó un aumento considerable de etileno dentro de los envases donde no se había detectado etileno (AC y AIA), alcanzando niveles muy parecidos a los observados dentro de los envases de los frutos control y tratados con AA. Al final del almacenamiento, la acumulación de etileno fue entre 0.025-0.03 ppm, no encontrándose diferencias significativas en los tratamientos con AC y AC ($p>0.05$). La mayor acumulación de etileno dentro de los envases, parece estar relacionada a los procesos de senescencia y deterioro del producto. Se ha observado, que bajos niveles de O_2 y altos de CO_2, pueden inhibir la síntesis de etileno en diferentes frutos (Zagory y col., 1989). En frutos climatéricos, se ha observado que la presencia de niveles de 5-20% de CO_2,

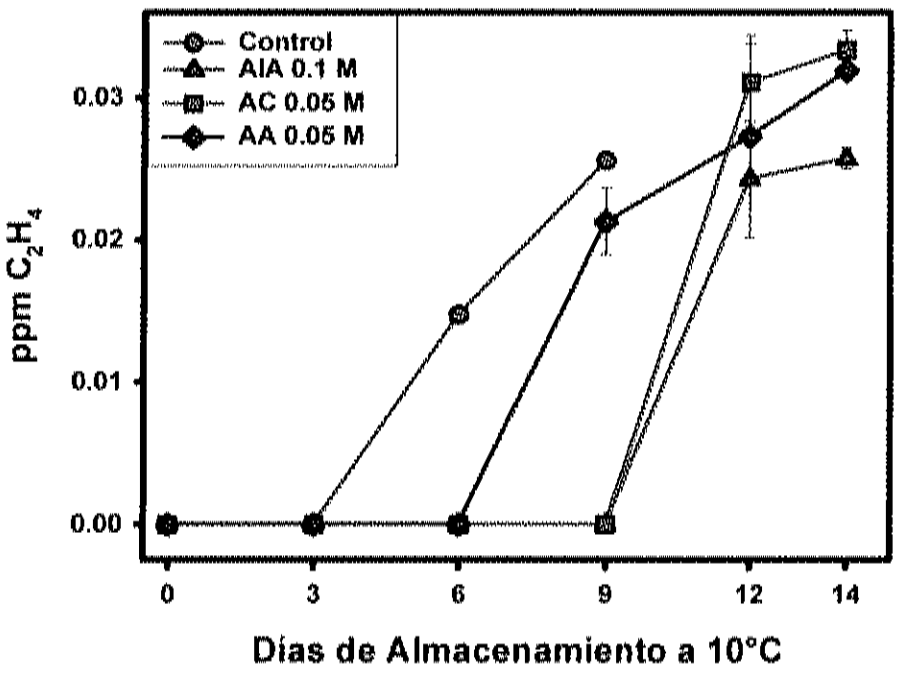


Figura 5. Producción de C_2H_4 dentro del envase de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

puede inhibir por completo la biosíntesis de etileno, debido a la supresión en la actividad de las enzimas ACC oxidasa y ACC sintasa (Mathooko, 1996). Cabe mencionar que el CO_2 es un inhibidor competitivo de la acción de etileno (Burg y Burg, 1967) y al mismo tiempo reduce la tasa de respiración de los productos enteros y cortados (Gorny, 2000). Por otro lado, la exposición al etileno de frutos enteros de piña puede dar lugar a un desverdizado de la cáscara (pérdida de clorofila), sin afectar la calidad interna (Kader, 2001).

Los frutos y vegetales cortados son envasados en bolsas y charolas cubiertas con películas de diferentes permeabilidad a los gases, que crean una atmósfera modificada alrededor del producto. Esta modificación puede reducir la tasa de respiración y producción de etileno, así como el oscurecimiento de la superficie y el ataque de patógenos (Gorny, 1997; Thompson, 1998). Sin embargo, cuando se combinan con compuestos antioxidantes, el beneficio es todavía mayor (Buta y col., 1999; González-Aguilar y col., 2000; Buta y Abbott, 2000).

Color (L^* y b^*)

El color es la primer variable que toman en cuenta los consumidores de frutos y vegetales frescos al momento de decidir una compra. El color de la superficie del producto es el responsable de la aceptación global del consumidor, mientras que la concentración de los pigmentos responsables de la coloración del fruto, esta más relacionado con la maduración y concentración de ciertos componentes del sabor.

El color amarillo característico de las rodajas de piña, es considerado como uno de los principales factores que toman en cuenta los consumidores para la decisión de su compra. Los valores de L^* y b^* fueron seleccionados como las variables más adecuados para medir los cambios de color de rodajas de piña fresca cortada. El valor L^*, se seleccionó porque nos indica la pérdida de brillantez de la rodaja de piña, es decir, como el valor L^* va de 0-100 (negro-

blanco), al observar un valor de L^* más bajo, la rodaja de piña se esta oscureciendo. Por otro lado, el valor b^* nos indica el cambio de coloración de amarillo (valores más positivos) a azul (valores mas negativos), por lo que, al observar valores más altos de b^*, el color de la rodaja de piña se mantiene amarilla. Hasta el momento, no existen reportes sobre los cambios en color de rodajas de piña fresca, durante el almacenamiento refrigerado. Bartolomé y col. (1996), reportaron los cambios en color pero en rodajas de piña congeladas, siendo los valores de "b" los que más se correlacionaban con los otros atributos de calidad del producto.

Las mediciones de color (L^* y b^*) fueron realizadas a una distancia aproximada de 2 cm de la periferia de las rodajas. Al inicio del experimento, se observó que el color de las rodajas seleccionadas tenían valores similares de L^* 75-76 (Figura 6A). Estos valores disminuyeron ligeramente en la misma proporción en las rodajas tratadas con AIA 0.1 M, AC 0.05 M y AA 0.05 M. Sin embargo, la disminución del valor de L^* fue más notable en los frutos control, alcanzando valores de hasta 63-64, después de 14 días a 10°C, siendo estos cambios significativos con respecto a los tratamientos evaluados ($p<0.05$). Los menores valores en L^* se correlacionaron con los valores más altos del índice de oscurecimiento ($r^2=0.55$), los cuales fueron mayores en las rodajas control y menor en las rodajas tratadas con los antioxidantes. En varios estudios se ha encontrado una correlación positiva entre estas variables y se utilizan ampliamente para determinar la efectividad de los tratamientos con antioxidantes en la apariencia visual del producto.

El uso de inhibidores del oscurecimiento ha sido muy regulado por las entidades de salud, ya que solo se permiten compuestos seguros para la salud humana y que no afecten el sabor y olor del producto. Uno de los compuestos mas ampliamente utilizado es el AA, debido a que es un inhibidor del oscurecimiento muy efectivo, seguro y barato. En el presente trabajo se encontró

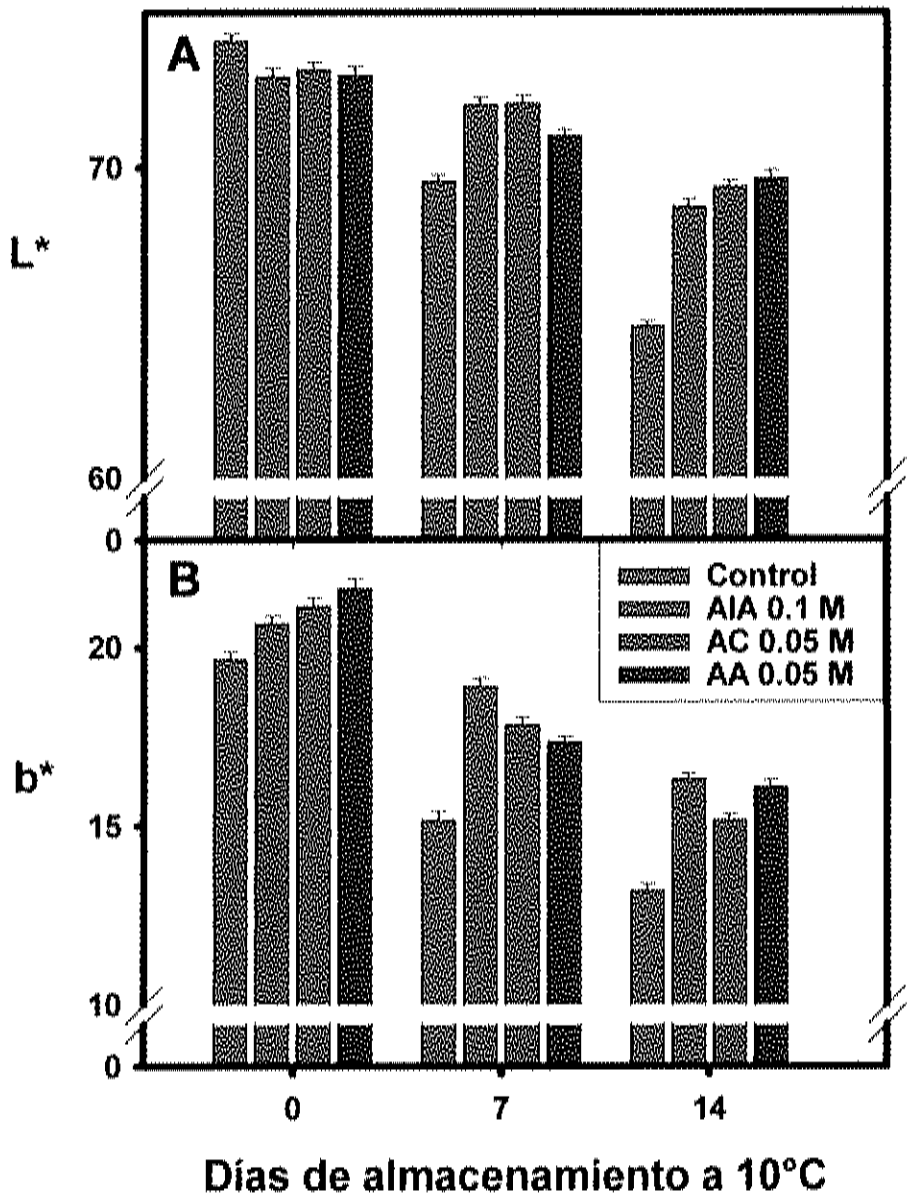


Figura 6. Parámetros de color (L^* y b^*) de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, inicial y después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n = 20$).

que el AA arrojó muy buenos resultados en rodajas de piña, manteniendo el color característico de la misma por un tiempo considerable (14 días a 10°C).

La variable *b**, nos indica la coloración amarilla de las rodajas de piña. En la Figura 6B, se observa que los valores de *b** disminuyeron durante el periodo de almacenamiento encontrándose diferencias significativas ($p<0.05$) del control, con respecto a los tratamientos evaluados. Se observa que los valores más bajos los presentan los frutos control, seguidos de los tratamientos con AC, AA y AIA (12.5, 15, 16 y 16.5 respectivamente), estos valores están correlacionados con el índice de oscurecimiento de las rodajas de piña fresca (r^2=-0.73).

Porcentaje de Exudado por Compresión

Se ha reportado que el porcentaje de exudado es una medida confiable del contenido del jugo de frutos cortados (Carlin y col., 1990; Barry-Ryan y O'Beirne, 2000). Ya que la mayor retención de agua y solutos, favorecen los atributos de calidad organoléptica y nutrimental del producto fresco. Un menor exudado se relaciona con un menor contenido de agua y solutos del producto. En el presente estudio se observó que el porcentaje de exudado aumentó paulatinamente con el periodo de almacenamiento, siguiendo un comportamiento similar en todos los tratamientos evaluados (Figura 7). Los frutos control tuvieron el menor porcentaje de exudado. Esto se relaciona con la menor capacidad de retención de agua del producto. Los frutos tratados con AIA 0.1 M presentaron el mayor porcentaje de exudado (5-6 %), seguidos de los frutos tratados con AC 0.05 M y AA 0.05 M, con 4.1%. La apariencia de estos frutos fue muy superior a la de los frutos control, los cuales presentaban síntomas de marchitamiento y deshidratación del tejido.

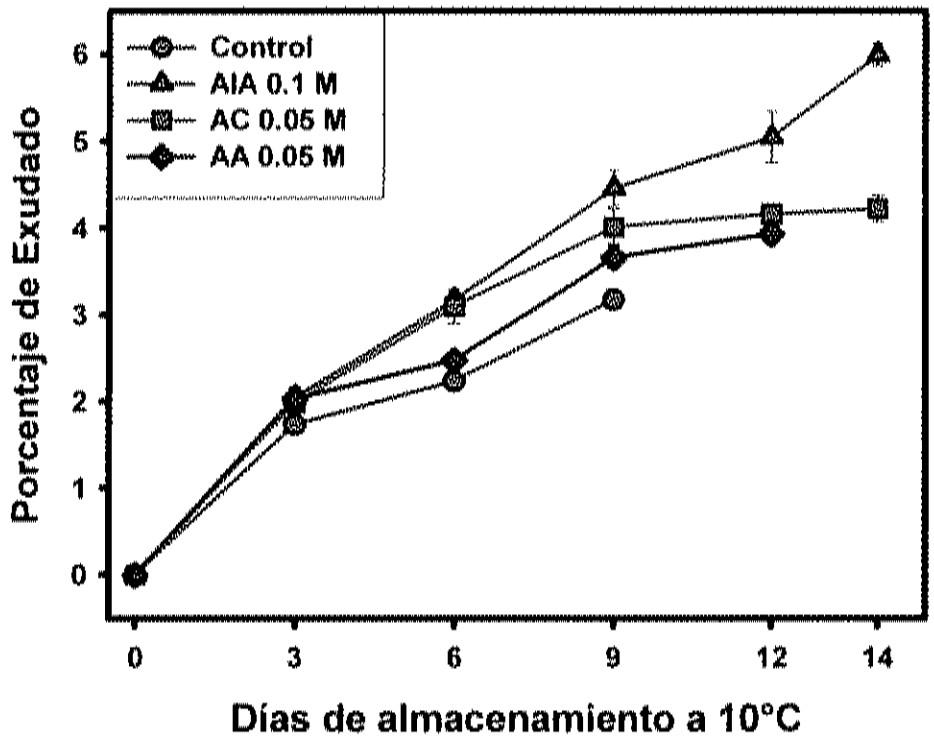


Figura 7. Porcentaje de exudado por compresión de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM y almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

Firmeza

La firmeza de los frutos y vegetales es afectada por varios factores que incluyen: la temperatura, humedad relativa y la composición celular del producto (Sams y col., 1993). Los cambios en la firmeza ocurren debido a los cambios químicos de los principales componentes de la pared celular como celulosa, pectinas, hemicelulosa. En general la pérdida de firmeza, ocurre a medida que el fruto madura. Es por ello que el estado de maduración de un producto al momento de la cosecha, influye en la velocidad de pérdida de firmeza del producto vegetal. Para el caso de frutos cortados, se recomienda utilizar frutos firmes con el fin de mantener el producto por un tiempo suficiente para su comercialización.

En el presente estudio se utilizaron rodajas de piña con una firmeza inicial de 54 N. Se puede observar que, en general, la firmeza disminuyó durante el período de almacenamiento en los diferentes tratamientos evaluados encontrándose diferencias significativas ($p<0.05$) (Figura 8). Las rodajas tratadas con los distintos antioxidantes disminuyeron significativamente la pérdida de firmeza de las rodajas de piña. La firmeza disminuyó drásticamente en los frutos control hasta alcanzar valores de 37 N, al dia 9 de almacenamiento. Estos frutos presentaron una mala apariencia y con síntomas de deshidratación y deterioro muy evidentes. Los tratamientos con AIA, AC y AA redujeron significativamente la pérdida de firmeza de las rodajas de piña. La firmeza disminuyó paulatinamente en estos tratamientos hasta alcanzar valores entre 44-47 N, al final del experimento. Estos valores se asociaron con una mejor textura y apariencia en general de las rodajas de piña. De la misma forma, la mayor firmeza fue positivamente correlacionada ($r=0.80$) con los principales atributos de calidad del producto. Por otro lado, las rodajas que presentaron un menor porcentaje de exudado, presentaron una mayor disminución de la firmeza, esto podría relacionarse a la capacidad de las

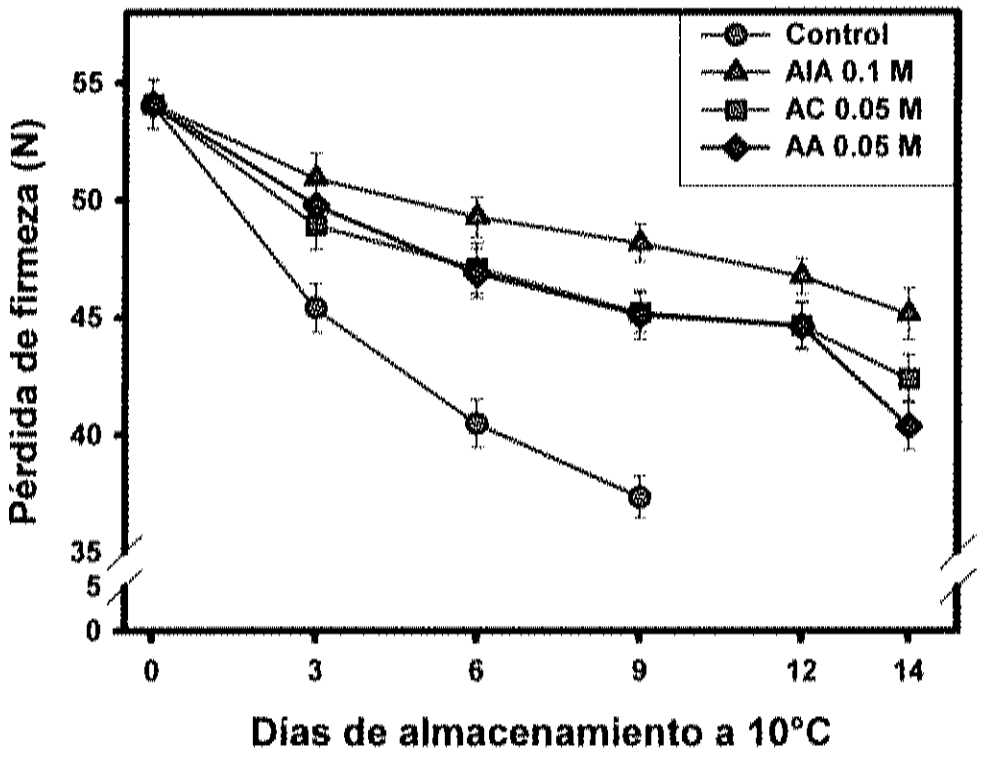


Figura 8. Cambios en firmeza de rodajas de piña fresca, tratadas con agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=12$).

rodajas en retener una mayor cantidad de agua. Por lo tanto, al haber una mayor contenido de agua, la rodaja de piña se mantiene más firme y fresca.

Se han reportado que los compuestos antioxidantes pueden tener diferentes efectos en la respuesta de frutos cortados. González-Aguilar y col. (2001), reportaron que el uso de antioxidantes no afectó la firmeza de rábanos cortados, durante el almacenamiento a 10°C. El uso de AA al 1% solo o en combinación con ácido cítrico al 1%, no afectaron los cambios de firmeza de rodajas de kiwi, después de 5 días a 2°C. Resultados similares fueron encontrados en rodajas de pera tratadas con diferentes compuestos antioxidantes (Buta y Abbott, 2000). Sin embargo, la adición de sales de calcio a soluciones de ácido ascórbico, puede reducir la pérdida de firmeza de rodajas de pera "Barlett" y de manzanas (Santerre y col., 1988). Sin embargo, no se observó ningún efecto benéfico al aplicar estos compuestos en rodajas de nectarinas y duraznos cortados, después de 8 días a 0°C (Gorny y col., 1999).

Al parecer, la reducción de la pérdida de firmeza en las rodajas de piña, podría estar relacionado con la atmósfera saturada de vapor de agua creada dentro del envase y al compuesto antioxidante. De la misma forma, la reducción de los procesos de oscurecimiento y deterioro por los antioxidantes, podría estar relacionada con la pérdida de textura del producto. Esto debido a que al deteriorarse menos, mantienen la turgencia por un período de tiempo muy superior al de las rodajas control (sin tratar). Para el caso de la piña, es rica en proteasas (bromelina) las cuales pueden jugar un papel muy importante en los procesos de inactivación de algunas enzimas involucradas en los procesos de senescencia. Sin embargo, no existen estudios que describan el papel de esta enzima en la senescencia de frutos cortados: Por esta razón, sería importante estudiar más a fondo en estudios posteriores, cual es el papel de esta enzima en los procesos de deterioro de rodajas de piña cortada.

Sólidos Solubles, Acidez Titulable y pH

El Cuadro 4 muestra los cambios de SST, AT y pH de rodajas de piña fresca, después de 7 y 14 días de almacenamiento a 10°C. El índice de calidad comestible de frutos de piña se encuentra en un intervalo de SST de 10.8-17.5; AT de 0.6-1.6% y ácido ascórbico de 10-25 mg/100 de peso fresco (Dull, 1971; Kader, 2001). En este experimento se utilizaron frutos maduros con un contenido de SST de 10.6, AT de 1.12 y pH de 3.3. En general, se observó una disminución paulatina en el contenido de SST y AT, así como un aumento del pH, durante el almacenamiento a 10°C. Esta tendencia, de reducción de la AT y SST, así como del aumento del pH se observa durante la maduración y senescencia de frutos de piña. Por lo tanto, la aplicación de los compuestos utilizados y el envasado no afectó el comportamiento de estas variables. Este mismo comportamiento, se observó en frutos cortados de melón al ser envasados en una atmósfera normal de aire a 5°C (Cantwell y Portela, 1997). Agar y col. (1999), correlacionaron la disminución del contenido de SST con el decremento en el contenido de azúcares en frutos cortados de kiwi. Lamikarra y col. (2000), encontraron una pérdida del 17% en SST y 2 veces el incremento de la AT después de 2 días de almacenamiento a 20°C en rodajas de melón, pero el cambio de acidez fue atribuido a las bacterias ácido lácticas.

Evaluaciones Subjetivas

Índice de Deterioro y Aceptabilidad

Los procesos de pelado y cortado causan heridas en el tejido vegetal, que aceleran las reacciones metabólicas relacionadas con los cambios en sabor, color, textura, calidad organoléptica y nutrimental (Abe y Watada, 1991, Watada, 1997). La remoción de la piel hace más susceptible el producto a la

Cuadro 4. Efecto de agentes antioxidantes y EAM sobre los cambios de calidad de rodajas de piña, envasadas y almacenadas 7 y 14 días a 10°C.

Tratamiento	pH		SST		AT	
	Días a 10°C					
	7	14	7	14	7	14
Control	3.44^{a}	$3.57^{a,b}$	9.1^{a}	9^{b}	1.1^{a}	1.07^{a}
AIA 0.1 M	3.47^{a}	3.66^{b}	9^{a}	$8.53^{a,b}$	0.9726^{a}	0.9436^{a}
AC 0.05 M	3.41^{a}	3.51^{a}	8.3^{a}	7.23^{a}	0.99^{a}	0.9818^{a}
AA 0.05 M	3.45^{a}	3.44^{a}	8.5^{a}	$7.86^{a,b}$	0.9515^{a}	0.899^{a}

Los valores iniciales de pH, SST y AT fueron de 3.33, 10.6 y 1.12 respectivamente. Promedio de (n = 3). Letras iguales dentro de cada columna no son diferentes estadísticamente ($p > 0.05$)

deshidratación, que favorece la pérdida de apariencia y conlleva al rechazo del consumidor (Gorny y col., 2000). Todos estos procesos metabólicos favorecen el deterioro del producto y limitan en gran medida su vida de anaquel. Se han utilizado varias tecnologías con el fin de suprimir estos procesos de deterioro. Recientemente, se ha comprobado que el uso de compuestos naturales a concentraciones apropiadas, son muy efectivos para reducir el deterioro y oscurecimiento de frutos y vegetales cortados (Ahvenainen, 1996).

En el presente estudio se encontró que el uso de antioxidantes redujo significativamente ($p<0.05$) el deterioro de piña cortada almacenada 14 días a 10°C (Figura 9A). Después de 7 días a 10°C se observó que el índice de deterioro fue de 2.6, 2.4, 1.2 y 1.1 en los frutos control, y tratados con AA, AIA y AC, respectivamente. Los frutos control alcanzaron al día 14 un índice de deterioro de 5, mientras que los tratados con AA, AC y AIA alcanzaron valores de 3.2, 3 y 2.4 respectivamente. Estos valores coinciden con los valores de aceptabilidad general del producto (Figura 9B). Cabe mencionar que los frutos tratados con los antioxidantes, empezaron a deteriorarse hasta el día 12. Los frutos tratados con AIA mantuvieron una buena apariencia y presentaron un índice de deterioro de 2.4, después de 14 días a 10°C. Estos valores corresponden a frutos aceptables y de acuerdo a la calidad presentada, pueden ser consumidos satisfactoriamente. A pesar que los frutos tratados con AC, tuvieron valores ligeramente superiores que los frutos tratados con AIA, estos presentaban buenas características físicas y buena apariencia general (Figura 9B). Al final del almacenamiento, se encontró que los frutos control tuvieron una apariencia general mala (no consumible) y los mayores índices de deterioro, comparado con los frutos tratados con AIA y AC (Figura 10).

Las concentraciones de los antioxidantes que arrojaron los mejores resultados en piña, están en el rango de concentraciones que han sido efectivas en otros productos vegetales. Se ha reportado que concentraciones de 0.75% de AA pueden conferir sabores en frutos cortados de manzana (Luo y Barbosa-

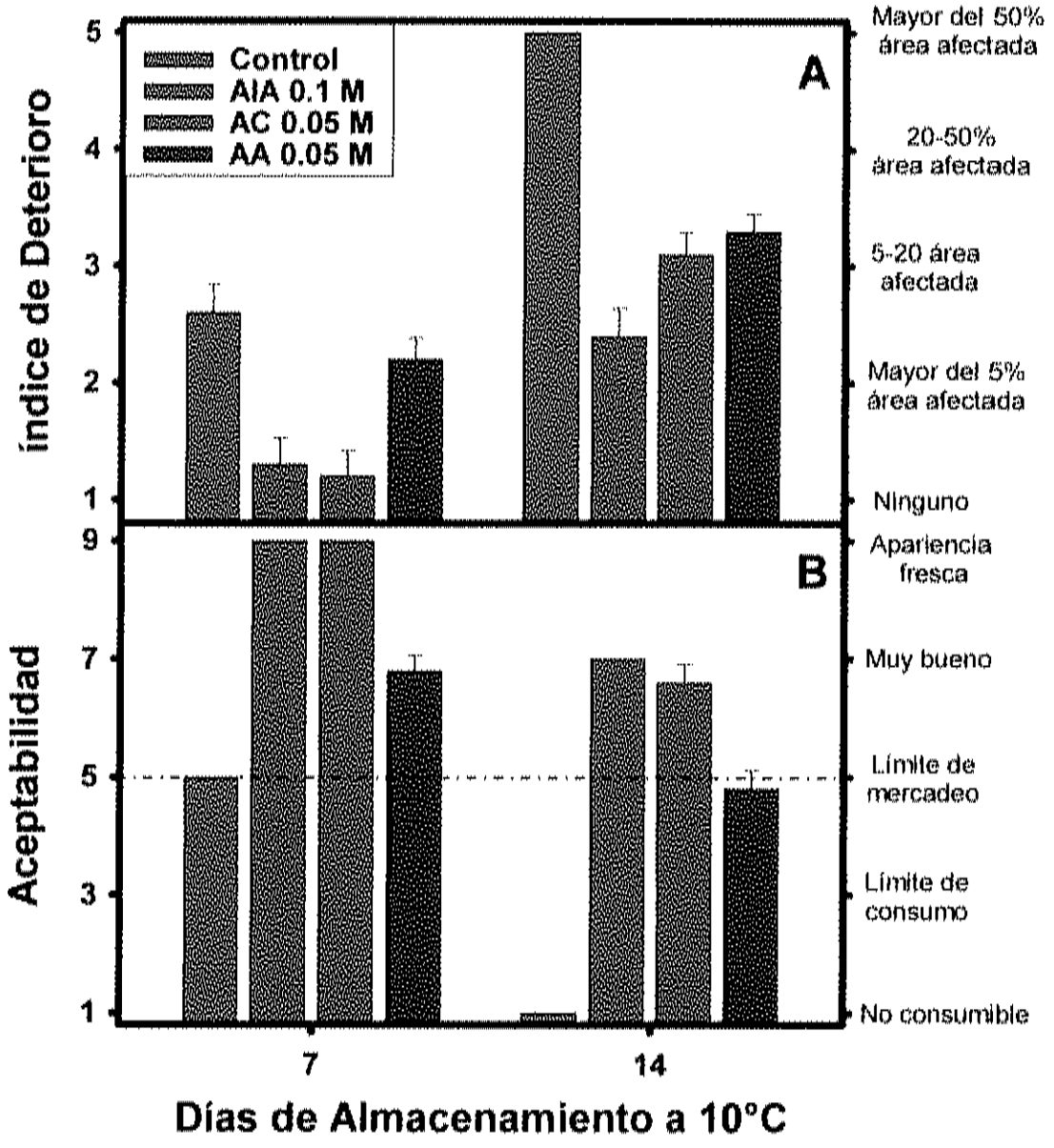


Figura 9. Índice de deterioro y aceptabilidad general de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=10$).

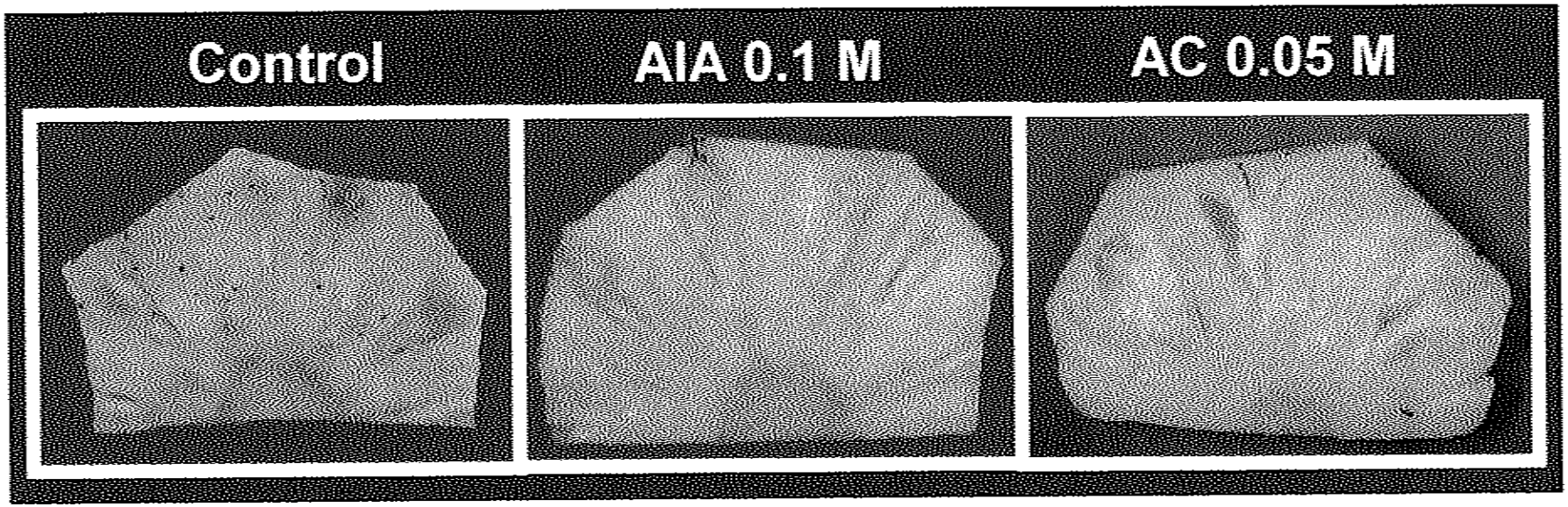


Figura 10. Apariencia general de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, después de 14 días a 10°C.

Cánobas, 1997). En nuestro estudio, observamos que las concentraciones de AIA y AC utilizadas, no afectaron las características organolépticas de las rodajas de piña. Al evaluar el producto por un grupo de 8 panelistas, se demostró que se mantenía su sabor característico después de 7 y 14 días a 10°C.

Se ha reportado la pérdida de calidad de frutos de piña cortados a diferentes temperaturas (O'Connor y col., 1994). Sin embargo, no se ha estudiado en detalle los principales procesos de deterioro involucrados en la pérdida de calidad de frutos de piña cortada fresca. Se ha reportado que la impregnación al vacío de soluciones con altas concentraciones de azúcares y ácidos orgánicos, es muy efectiva para evitar el deterioro y prolongar la vida de anaquel de piña (Fito y Chiralt, 2000). Lambrecht (1995), encontró que la inmersión de rodajas de piña por 2 minutos en soluciones de 0.3% de AA y 0.3% de AIA, reducía el oscurecimiento y deterioro, durante 21 días a 0°C. No se mencionan si los tratamientos afectaron las características sensoriales del producto, tampoco los cambios bioquímicos asociados a la calidad del producto. De la misma forma, no se comprobó la eficacia de estos tratamientos a temperaturas superiores. Sin embargo, en estos estudios la presentación del producto no es la más atractiva. La ventaja que presenta nuestro estudio es debido a que durante los últimos años el consumidor esta demandando productos frescos y de consumo inmediato (Laurila y col., 1998).

En estudios previos se ha demostrado la capacidad de estos compuestos para mantener la calidad de varios productos cortados. Tal es el caso de mango cortado, donde se encontró que la combinación de varios agentes antioxidantes (HR, sorbato de potasio y AA), redujo el deterioro y el desarrollo de hongos y se mantuvo la calidad por más de 14 días a 10°C (González Aguilar y col., 2000). Cabe mencionar que el uso de HR en un rango de concentración de 0.001 a 0.01 no arrojó ningún beneficio en piña cortada cuando se aplicó en forma individual, ni cuando se combinó con otros antioxidantes y agentes antimicrobianos. Los procesos que conllevan al oscurecimiento de piña cortada

no se llevan a cabo tan rápido como suceden en manzana, pera, champiñones, plátano, etc. Sin embargo, después de 7 días es un factor determinante que influye significativamente en la pérdida de calidad del producto.

Se ha visto que en frutos de plátano cortado es muy difícil evitar el oscurecimiento y deterioro. Sin embargo, Moline y col. (1999), encontraron que la combinación de ácido cítrico 0.5 M y 0.05 M de AC, inhibía el oscurecimiento y suprimía el desarrollo de microorganismos, en rodajas de plátano almacenadas a 5 y 15°C. Buta y col. (1999), encontraron que la combinación a diferentes concentraciones de HR, AIA, AC y propianato de calcio, inhibió el oscurecimiento y el desarrollo de microorganismos en rodajas de manzanas, almacenadas a 5°C durante 5 semanas. Después de este periodo de tiempo, las rodajas de manzanas tuvieron buena apariencia general y valores más altos de azúcares y ácidos orgánicos, comparadas con las rodajas control (sin tratar). El tratamiento de AC fue muy efectivo en frutos de piña, sin embargo, cuando se combinó con HR, la efectividad se redujo significativamente. Probablemente, otros compuestos naturales de la piña, pudieran estar reaccionando con estos compuestos y de esta forma inhibir la acción de los mismos. Se ha reportado que el jugo natural de piña por sí solo, inhibe el oscurecimiento y por consecuencia el deterioro de rodajas de manzana y plátano (Lozano-González y col. 1993; Moline y col. 1999).

Se ha reportado que soluciones conteniendo extractos de semillas de toronja, son muy efectivas para reducir el deterioro de cebollas y habas cortadas (Park y col., 1999). Sin embargo, es necesario combinar con compuestos antioxidantes como ácido cítrico y ascórbico, para evitar el oscurecimiento de la superficie del producto. La inmersión de rodajas de zanahorias en una solución de ácido cítrico al 0.1%, es muy efectiva para mantener las características de calidad, durante 8 días a 8°C (Amanatidou y col., 2000). Francis y O'Beirne (1997), encontraron que la inmersión de lechugas cortadas en soluciones de cloro (100 ppm) y ácido cítrico al 1%

durante 3 y 5 minutos, favorecían el desarrollo de algunos patógenos. Estos resultados contrastaron con los observados previamente por Beuchat y Brackett (1990). Sin embargo, Beuchat y col. (1998), encontraron que el tratamiento de cloro (200 ppm) en aspersión, en lugar de inmersión, era muy efectivo para reducir la población de microorganismos patógenos en manzanas, tomates y hojas de lechuga.

En estudios preliminares de piña cortada, se encontró que al combinar los diferentes compuestos antioxidantes que fueron efectivos en forma individual, se favorecía significativamente el oscurecimiento y deterioro del producto. El porqué de estos compuestos no tuvo un efecto aditivo, al disminuir su efectividad en forma combinada, es un fenómeno que requiere de estudios adicionales y más profundos para tratar de explicar este comportamiento.

El uso de atmósferas modificadas y controladas en combinación con compuestos antioxidantes y antimicrobianos, han sido utilizados satisfactoriamente en diferentes frutos y vegetales cortados. Gorny y col. (1999), observaron que el uso de AA al 2% y lactato de calcio al 2% no tuvo un efecto significativo en el aumento de la vida de anaquel de duraznos y nectarina cortados. Sin embargo, al combinarlos con 0.25% de O_2 y 10 a 20% de CO_2, la efectividad de estos compuestos se incrementó notablemente. Agar y col. (1999), encontraron que la inmersión de rodajas de kiwi en soluciones de 1% de cloruro de calcio y 2% de lactato de calcio, se mantenía la calidad organoléptica hasta por 9 a 12 días, en una atmósfera de 2 a 4% de O_2 y 5 a 10 % CO_2. Hendricks y Hotchkiss (1997), encontraron en rodajas de manzanas, que los altos niveles de CO_2 (30%), redujeron el desarrollo de patógenos y al mismo tiempo incrementaba la tolerancia a los bajo niveles de O_2. Hong y col. (2000), reportaron que el uso de 0.1 a 0.2% O_2 o 0.1 a 0.2% O_2 mas 7.5 a 9% CO_2, mantenía la apariencia general y la calidad de cebollas verdes cortadas por hasta 14 días a 5°C. Al parecer la efectividad de los tratamientos con antioxidantes está en función de la temperatura de almacenamiento y a medida

que disminuye la temperatura, es mayor el beneficio que se obtiene. Es importante señalar, que la mayor tolerancia al frío que presentan los frutos cortados con respecto a su presentación entera, es una ventaja que ha sido aprovechada por los procesadores de frutos y vegetales cortados. Como ejemplo podemos mencionar a frutos de mango, papaya y piña, que en forma entera son muy susceptibles a temperaturas por debajo de 10°C. Sin embargo, cuando son cortados o mínimamente procesados, pueden tolerar temperaturas de hasta 4°C, sin presentar daños por frío (O'Connor y col., 1994; González Aguilar, 2000). Cabe mencionar que no se puede generalizar, tal es el caso de calabaza zucchini que es muy sensible al frío, una vez cortada su susceptibilidad al frío se mantiene y desarrolla síntomas de daños por frío y deterioro a temperaturas de 0, 5 y 10°C (Watada, 1997).

Índice de Oscurecimiento

Una de las principales razones por las cuales no se tienen en el mercado una amplia gama de producto cortados, es por su alta susceptibilidad al oscurecimiento y cambios de color, que limitan significativamente su vida de anaquel. Desde la prohibición de sulfitos en frutos y vegetales cortados para el control del oscurecimiento, se ha visto la necesidad de buscar nuevos compuestos que sean seguros para la salud humana. Son varios los métodos que pueden ser utilizados para inhibir el oscurecimiento de frutos y vegetales cortados. El uso de AA, AIA en combinación con AC, sales de calcio, fosfatos, cisteína y otros agentes complejos inhibidores de la enzima PPO responsable del oscurecimiento, han sido propuestos como nuevas alternativas al uso de sulfitos (Laurila y col., 1998).

En el presente trabajo se encontró que el oscurecimiento de la superficie de las rodajas de piña control, daba inicio después de 3 días a 10°C. Pero para el día 7, el oscurecimiento era un factor limitante en la aceptabilidad del

producto de los frutos control (Figura 11). Sin embargo, en otros productos cortados como papas, manzana, pera, plátano entre otros, el oscurecimiento enzimático se lleva a cabo en un período de 5-30 minutos (Laurila y col., 1998). El tiempo en llevarse a cabo la reacción del oscurecimiento depende del tipo de producto, composición química, variedad y condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad relativa) (Watada, 1997). La inmersión de las rodajas de piña en distintas soluciones de AIA 0.1 M, AC 0.05 M y AA 0.05 M, durante 2 minutos previo al almacenamiento a 10°C, disminuyó significativamente el oscurecimiento. La efectividad de estos antioxidantes en rodajas de piña, se mantuvo independientemente de la concentración de O_2 (13-14%) y de CO_2 (2-3%) dentro del envase (Figura 4).

El modo de acción de AA y AIA en inhibir el oscurecimiento enzimático, es debido a su capacidad de reducir las quinonas, antes de que formen pigmentos (oscuros) indeseables en el producto. Sin embargo, una vez que el AA es oxidado a ácido dehidroascórbico, las quinonas pueden polimerizarse y producir el oscurecimiento característico en los frutos cortados (Laurila y col., 1998). Se ha descrito que la efectividad de AC para reducir el oscurecimiento enzimático, es debido a su alta capacidad para reaccionar con las quinonas y formar compuestos intermediarios sin color muy estables. Además, la ventaja que presentan estos productos (AIA, AC y AA) es que pueden ser utilizados como ingredientes seguros para la salud humana, en distintos productos vegetales (Dudley y Hotchkiss, 1989).

El compuesto HR, es uno de los antioxidantes más potentes que se han descubierto. Se ha demostrado en varios productos su gran capacidad para controlar las reacciones de oxidación y oscurecimiento, inhibiendo eficazmente la acción de PPO a concentraciones de hasta 0.0001 M, muy inferiores a las utilizadas en otros compuestos (McEvily y col., 1991; Sapers y Miller, 1998). Sin embargo, su aplicación en rodajas de piña, no arrojó los beneficios obtenidos en otros productos vegetales. De la misma forma, al combinarlo con los otros

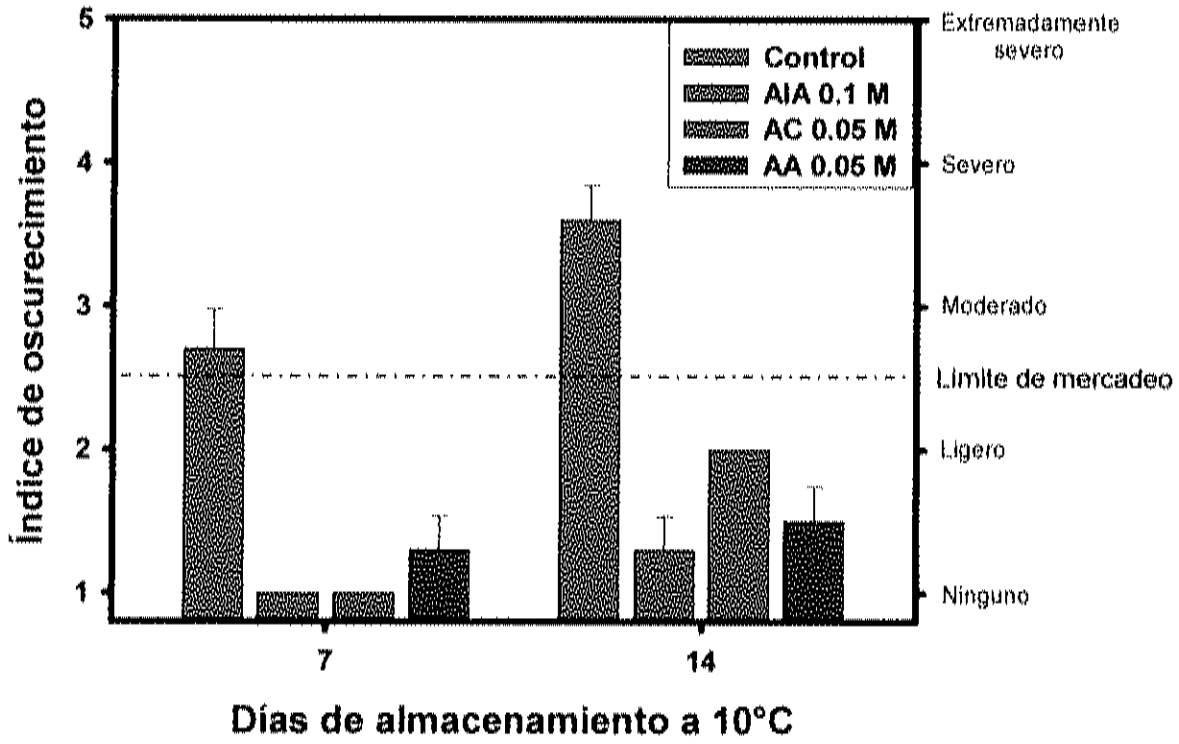


Figura 11. Índice de oscurecimiento de rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, después de 7 y 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=10$).

antioxidantes utilizados en piña, se observó una disminución de la efectividad de estos compuestos, que cuando se aplicaron en forma individual (AIA, AC y AA). El uso de este compuesto ha sido aprobado para inhibir el oscurecimiento en camarón; sin embargo, hasta el momento no ha sido liberado por la FDA (Food and Drug Administration) de los EUA, para su uso en frutos y vegetales cortados.

En otros estudios, se ha reportado que el oscurecimiento enzimático puede disminuirse con la exclusión del oxígeno a niveles menores al 5% (Burton, 1982), así como con la presencia de niveles de CO_2 superiores al 5% (Molnar y Friedman, 1990; Mateos y col., 1993). Estos últimos investigadores, encontraron que el modo de acción de los altos niveles de CO_2 (20%), era a través del aumento en el contenido de fenoles y de la enzima PAL, responsable de su síntesis. Sin embargo, Rocha y Morais (2001), encontraron que niveles de 2% O_2 + 12% CO_2 redujo el oscurecimiento enzimático, inhibiendo la enzima PPO, pero no encontraron una correlación positiva en el contenido de fenoles y la actividad de esta enzima. Gunes y Lee (1997), encontraron que para inhibir el oscurecimiento de papas, era necesario la modificación activa de la atmósfera dentro del envase. Sin embargo, encontraron una mayor reducción del oscurecimiento al tratar los frutos con AC al 0.5% y ácido cítrico al 2%.

En el presente trabajo, se encontró que al parecer la reducción del oscurecimiento, esta más relacionado a los compuestos antioxidantes en las concentraciones utilizadas, que a los cambios en la atmósfera creada dentro del envase (Figura 4).

Evaluaciones Bioquímicas

Ácido Ascórbico

Cerca del 90% del AA consumido es proporcionado por las frutas y vegetales frescos (Paull, 1997). Los frutos de origen tropical y subtropical son una de las principales fuentes AA. El AA es una variable de calidad de frutos. Por lo tanto, al presentar niveles altos de AA la calidad del fruto es mejor. Se ha reportado que la pérdida AA está asociada a la pérdida de la calidad organoléptica y nutrimental de los productos vegetales. La pérdida de AA esta en función de la temperatura de almacenamiento y es mayor a altas temperaturas (Mondy y Leja, 1986).

Los frutos de piña aportan una importante cantidad de AA. Sin embargo, no existen reportes sobre la pérdida de este compuesto en rodajas de piña tratadas con antioxidantes y almacenadas a bajas temperaturas. La evaluación de los cambios que existen en el contenido de AA es muy importante, ya que nos dan una idea de la pérdida del valor nutrimental que ocurre después de los procesos de pelado y cortado del fruto.

La Figura 12 muestra el cromatograma característico de los estándares utilizados y el extracto de rodajas de piñas. Se puede observar que el tiempo de retención del estándar de AA (7.1 min), coincide con el tiempo de retención de este compuesto en el extracto. A pesar que se presentaron otros picos en el cromatograma del extracto crudo de piña, estos no interfirieron en la cuantificación del AA.

El contenido de AA en frutos de piña incrementa durante el desarrollo del fruto. Una vez alcanzado su madurez, el contenido de AA alcanzado varía de 10-25 mg/100 g de peso fresco. Se ha observado que durante la postcosecha, el contenido de AA permanece constante por un período de 2 semanas, para posteriormente disminuir.

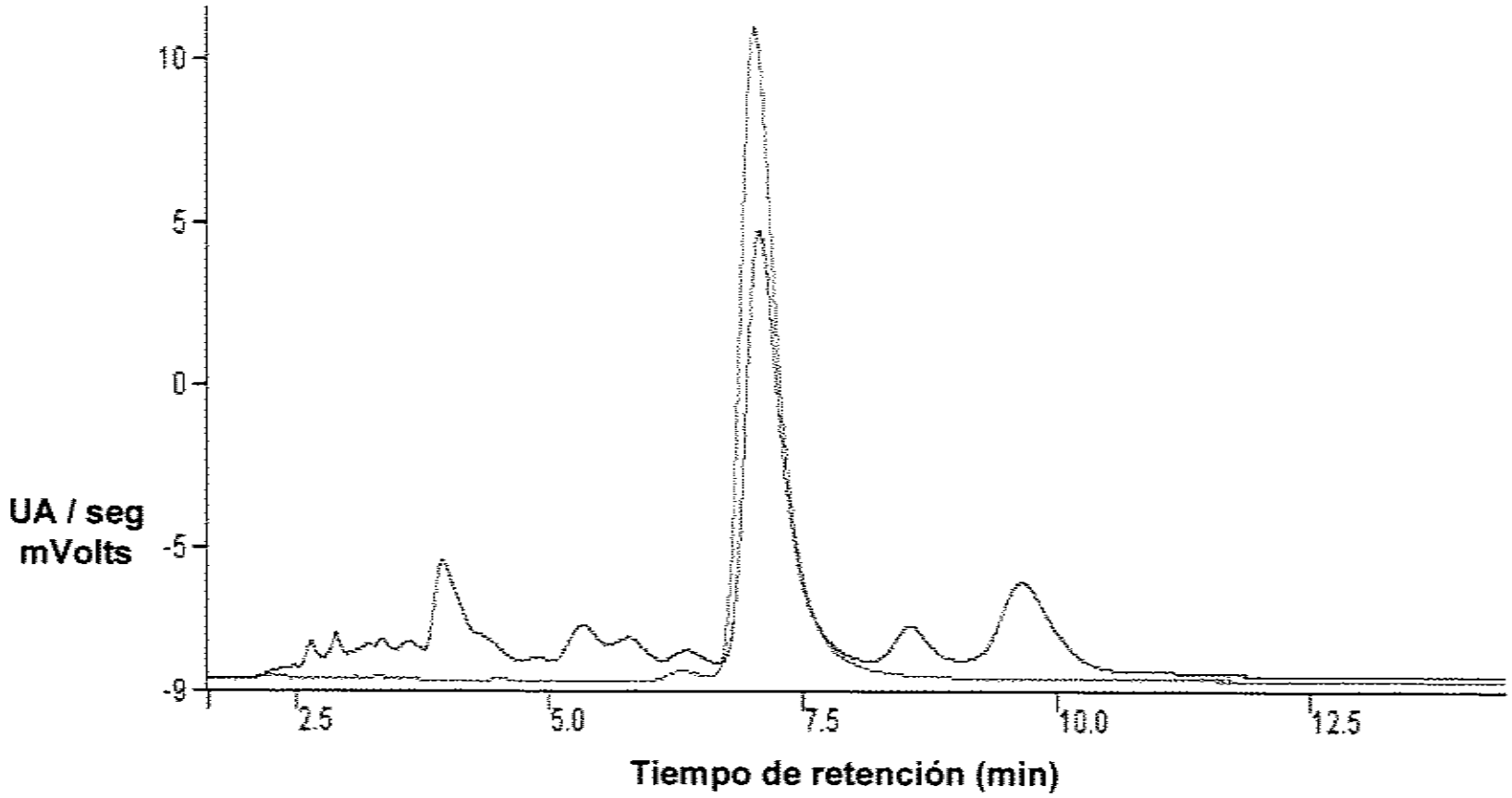


Figura 12. Cromatógrama de HPLC característico en el contenido de AA, del estándar (Rojo) y del extracto de rodajas de piña fresca (Azul). El análisis se realizó en una columna Waters-NH2 tipo µBondapack de 3.9 x 300 mm de diámetro y longitud con 10 µm de tamaño de partícula. Se utilizó acetonitrilo-fosfato de potasio (75:25 v/v) como fase móvil y un detector UV-VIS Varian 9050 a una longitud de onda de 268 nm. El tiempo de la corrida fue de 15 min.

La Figura 13 muestra los cambios en el contenido de AA de las rodajas de piña tratadas con los diferentes antioxidantes. Se puede observar, que el contenido de AA fue muy superior en las rodajas tratadas con AA 0.05 M, esto debido a la aplicación exógena de este compuesto, ya que favoreció la acumulación en el tejido de las rodajas de piña, hasta alcanzar un nivel de 45 mg/100 g de peso fresco después de 3 días de almacenamiento a 10°C. Sin embargo, después de este período de tiempo, se observó una disminución paulatina, hasta alcanzar niveles de 18 mg/100 g de peso fresco al final del almacenamiento. Gorny y col. (2002), encontraron que el contenido de AA en rodajas de pera tratadas con AA (2%), disminuyó la concentración hasta alcanzar niveles similares al control. Esto aparentemente se debe a que el AA es convertido a ácido dehidroascórbico y su siguiente degradación a ácido 2,3-dicetogulónico (Sawamura y col., 1991). Un comportamiento similar, siguieron las rodajas de piña tratadas con AIA 0.1 M. Después del tercer día de almacenamiento a 10°C, se observó el máximo valor (19 mg/100 g de peso fresco). Posteriormente, estos niveles disminuyeron paulatinamente hasta alcanzar niveles de 12 mg/100 g de peso fresco.

El contenido de AA en las rodajas control permaneció constante hasta el día 3 de almacenamiento, para el día 6, disminuyó hasta alcanzar niveles de 7 mg/100 g de peso fresco, sin cambios apreciables el resto del almacenamiento a 10°C. Se observó una ligera disminución del contenido de AA en las rodajas tratadas con AC 0.05 M. Sin embargo, se puede observar un ligero incremento en el día 9 de almacenamiento, para posteriormente permanecer constante y alcanzar un valor de 9 mg/100 g de peso fresco al final del almacenamiento. Se ha observado, que el frío inhibe la degradación de AA, mientras que la temperatura ambiente (20-28°C) y la oscuridad la favorecen (Mondy y Leja, 1986). En rodajas de kiwi envasadas en una atmósfera normal de aire, se observó un disminución considerable en el contenido de AA a medida que

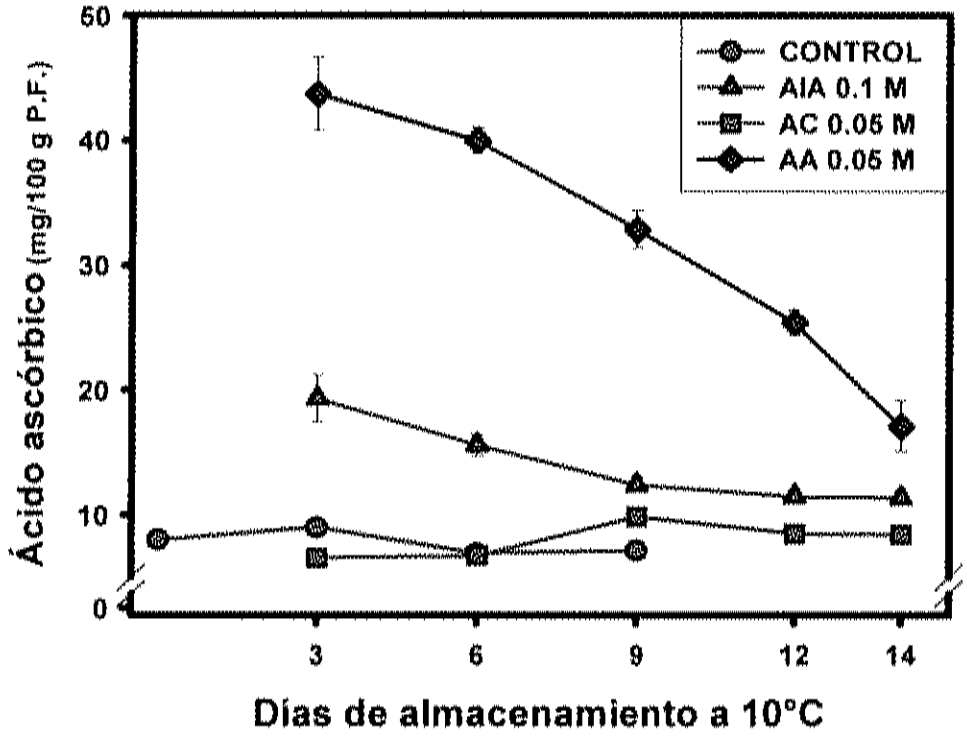


Figura 13. Contenido de ácido ascórbico en rodajas de piña fresca tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

se aumentó la temperatura de almacenamiento, 0, 5 y 10°C, respectivamente. Esto debido a que le AA fue degradado a ácido dehidroascórbico (Agar y col., 1999).

Azúcares

El sabor dulce es un parámetro de calidad muy importante en las frutos frescos. Generalmente, está asociado con el contenido de sacarosa, fructosa y glucosa, los cuales son utilizados como un índice de maduración del producto. Después de la cosecha y durante la maduración de piña, los cambios en azúcares y el desarrollo del sabor dulce, no están bien establecidos a pesar que el sabor dulce se utiliza como un índice de calidad de este producto.

En el presente trabajo se determinaron los principales azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) responsables del sabor dulce de la piña (Mitra, 1997). En la Figura 14 se puede observar el cromatograma característico de los estándares y del extracto de piña, los cuales se presentan a un mismo tiempo de retención (6.5, 7.5 y 11 min respectivamente).

La Figura 15 muestra los cambios en el contenido de azúcares de los frutos de piña bajo los diferentes tratamientos evaluados. Se puede observar que el contenido de fructosa presentó un aumento paulatino hasta el día 6 y para posteriormente disminuir durante el periodo de almacenamiento a 10°C, siguiendo un comportamiento parecido en las rodajas control y tratadas con AC 0.05 M, hasta alcanzar valores de 1.2 y 1.1 g/100 g de peso fresco (Figura 15A). El contenido de fructosa siguió un patrón diferente en las rodajas tratadas con AA 0.05 M. Después de 3 días a 10°C, se observó un aumento paulatino, hasta el día 9 a 10°C alcanzando valores de 2.1 g/100 g de peso fresco. Posteriormente, estos valores disminuyeron hasta alcanzar valores de 1.9 g/100 g de peso fresco. Se puede observar que el contenido de fructosa en las rodajas tratadas con AIA 0.1 M, presentaron un incremento durante el periodo

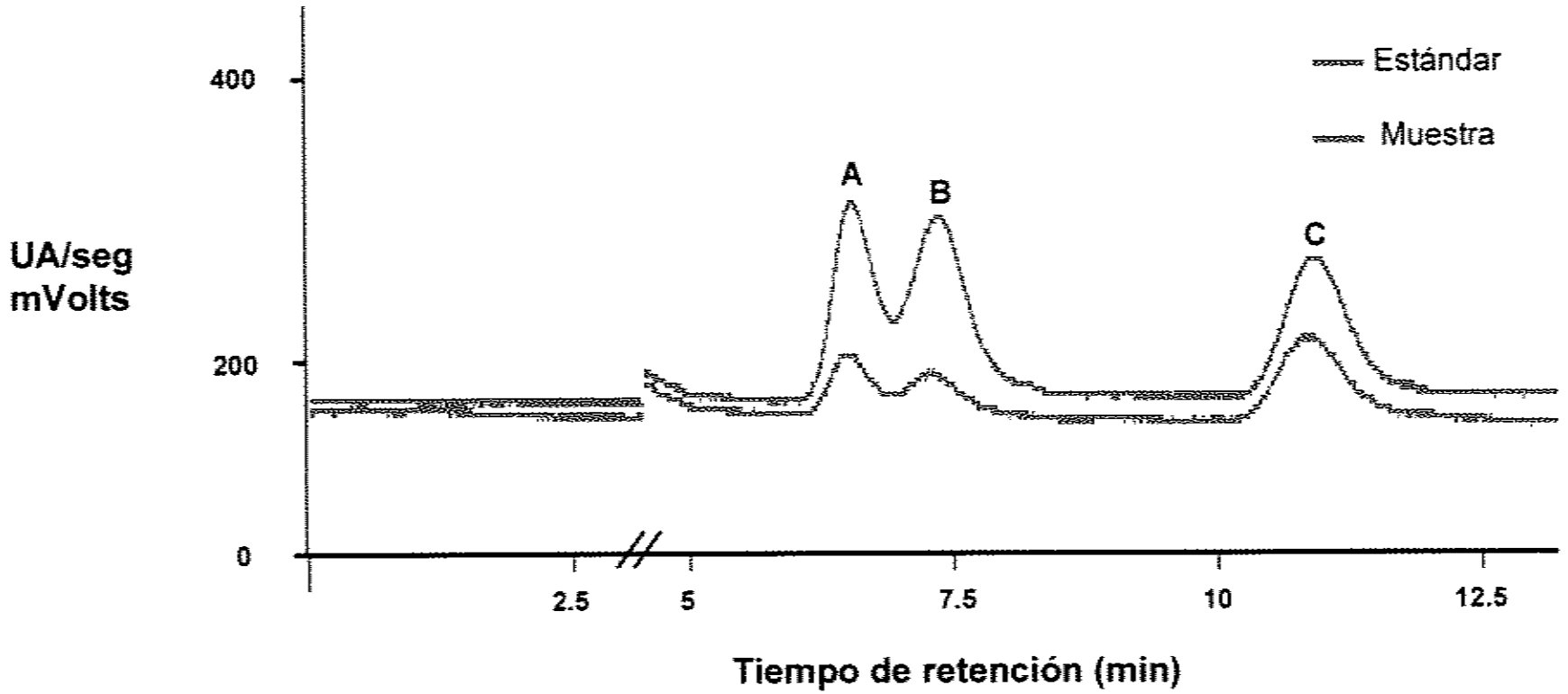


Figura 14. Cromatograma de HPLC característico de estándares de glucosa (A), fructosa (B) y sacarosa(C) y del extracto de rodajas de piña fresca. El análisis se realizó en una columna µBondapack/Carbohydrate de 3.9 x 300 mm de diámetro y longitud con 10 µm de tamaño de partícula. Se utilizó acetonitrilo-agua (80:20 v/v) como fase móvil y un detector UV-VIS Varian 9050 a una longitud de onda de 192 nm. El tiempo de la corrida fue de 15 min.

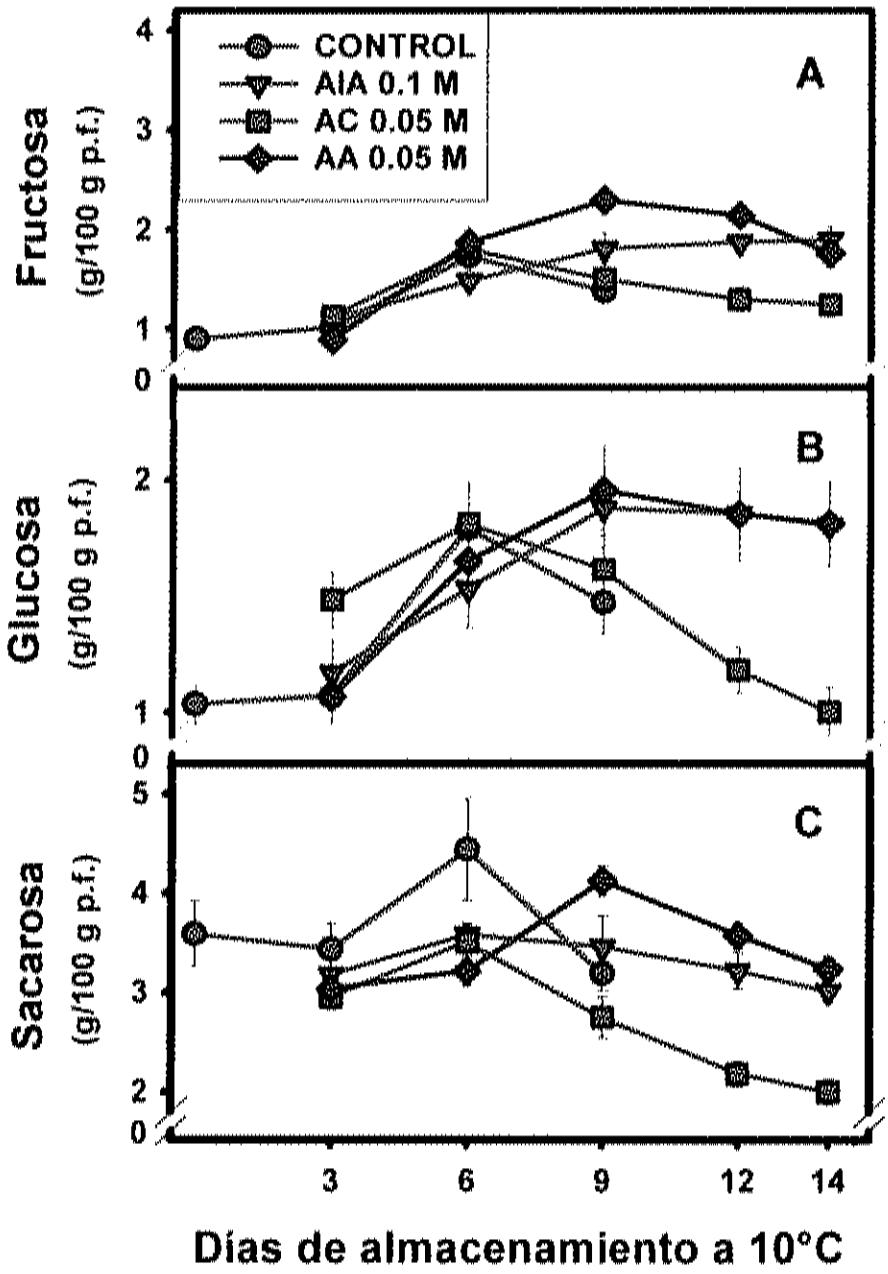


Figura 15. Contenido de azúcares (fructosa, glucosa, sacarosa) en rodajas de piña fresca tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

de almacenamiento hasta alcanzar valores muy similares a los observados en las rodajas tratadas con AA 0.05 M (1.9 g/100 g de peso fresco); sin embargo, estos cambios no fueron significativos ($p>0.05$). Probablemente debido a que los valores de azúcares encontrados son muy bajos y similares, se podría decir que los pequeños cambios observados no tienen un efecto significativo en la calidad del producto.

Los cambios en el contenido de glucosa presentaron un patrón parecido en los tratamientos evaluados, pero con niveles diferentes (Figura 15B). Los niveles de glucosa alcanzaron los niveles máximos después de 6 días en los frutos control y los tratados con AC 0.05 M, respectivamente. Sin embargo, después de 6 días de almacenamiento se observó una disminución continua, hasta alcanzar niveles similares a los observados inicialmente. Los frutos tratados con AIA 0.1 M y AA 0.05 M, alcanzaron sus niveles más altos a los 9 días de almacenamiento, para posteriormente mantenerse sin cambios apreciables (Figura 15B). Los frutos tratados con AIA 0.1 M y AA 0.05 M mantuvieron los niveles de glucosa por encima de los observados en los frutos control y los tratados con AC 0.05 M; sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tratamiento evaluados.

Al día 3 de almacenamiento a 10°C, el contenido de sacarosa presentó una disminución en los frutos control. Sin embargo, para el día 6 se presentó un aumento en todos los tratamientos evaluados, donde la mayor acumulación se observó en las rodajas control, alcanzando el máximo valor de 4.2 g/100 g de peso fresco, para posteriormente disminuir, siguiendo un comportamiento similar en las rodajas control y tratadas con AIA 0.1 M y AC 0.05 M. Sin embargo, la disminución en el contenido de sacarosa después del día 6 de almacenamiento no fue tan drástica en las rodajas tratadas con AIA 0.1 M. Las rodajas tratadas con AA 0.05 M, alcanzaron sus valores más altos al día 9 de almacenamiento, para posteriormente disminuir paulatinamente hasta alcanzar

valores ligeramente superiores a los observados en las rodajas tratadas con AIA 0.1 M (3-3.3 g/100 g de peso fresco).

Se puede observar, que el AA y AIA, muestran una degradación más lenta en la degradación de los azúcares durante el almacenamiento, mientras que la AC no presenta una inhibición de estos procesos. Esto podría deberse a que el modo de acción de la AC es diferente a las del AIA y AA. Toledo y col. (1999), reportaron que la AC puede reaccionar con glucosa y ramnosa y producir compuestos no identificados. En el presente estudio no tenemos evidencias suficientes para decir que la presencia de AC en las rodajas de piña, pudieron haber reaccionado con los azúcares provocando una disminución, como se observó después de 7 días a 10°C. Sin embargo, no tenemos una explicación científica para reforzar y discutir adecuadamente los resultados encontrados en piña, probablemente otras reacciones están involucradas en esta disminución en el contenido de azúcares en las rodajas tratadas con AC.

Etanol y Acetaldehído

El etanol y acetaldehído son los principales productos de fermentación en tejidos vegetales y su acumulación se ha correlacionado positivamente con malos olores y sabores en el fruto (Ke y col., 1991). Los procesos de pelado y cortado, favorecen la difusión y pérdida de estos compuestos, los cuales al alcanzar ciertas concentraciones participan en el aroma característico del producto. Uno de los métodos empleados para disminuir estas pérdidas de volátiles, son las cubiertas naturales o comestibles y películas poliméricas (Guilbert y col., 1995; Baldwin y col., 1995). Sin embargo, el uso inapropiado puede favorecer la acumulación de etanol y acetaldehído, por encima de los límites del umbral del consumidor y proporcionar sabores y olores desagradables.

En el presente trabajo, se observó un aumento en los niveles de etanol y acetaldehído, de diferente magnitud en las rodajas de piña sujetas a los diferentes tratamientos (Figura 16A).

Se puede observar que los niveles de acetaldehído aumentaron paulatinamente en los frutos tratados con AC 0.05 M, alcanzando niveles de 1.8 µL-g de peso fresco al final del almacenamiento. Mientras que en el resto de los tratamientos, se empezó a acumular a partir del día 6. Posteriormente, las rodajas tratadas con AIA 0.1 M presentaron la mayor acumulación de acetaldehído (3.2 µL-g de peso fresco), seguido de los frutos tratados con AC 0.05 M y AA 0.05 M con 1.8 y 1.6 µL-g de peso fresco, respectivamente, siendo estos cambios significativos ($p<0.05$) con respecto al control. Los frutos control presentaron, en general, la menor acumulación de etanol y acetaldehído durante el almacenamiento a 10°C. La acumulación de etanol (Figura 16B) siguió un comportamiento parecido a la del acetaldehído, pero los niveles fueron muy superiores y en diferente proporción en los distintos tratamientos evaluados. En el tratamiento de AIA 0.1 M, se observó un aumento paulatino y muy superior al observado en los frutos tratados con AA 0.05 M. El contenido de etanol al final del almacenamiento a 10°C fue de 145 y 90 µL-g de peso fresco, en los frutos tratados con AIA y AA, respectivamente. Sin embargo, los niveles de etanol en los frutos tratados con AC, aumentaron ligeramente sin cambios apreciables durante el periodo de almacenamiento. Al final del almacenamiento a 10°C, estos frutos alcanzaron niveles de 32 µL-g de peso fresco. Al final del almacenamiento, los frutos control presentaron los niveles más bajos de etanol, siendo estos niveles significativos ($p<0.05$) con respecto a las rodajas tratadas con los diferentes antioxidantes.

Generalmente, bajos niveles de O_2 dentro del envase, provocan una acumulación en la concentración de acetaldehído y etanol. Sin embargo, en este estudio parece ser que la acumulación de estos volátiles podría estar mas relacionado a los tratamientos aplicados que a los cambios en la atmósfera

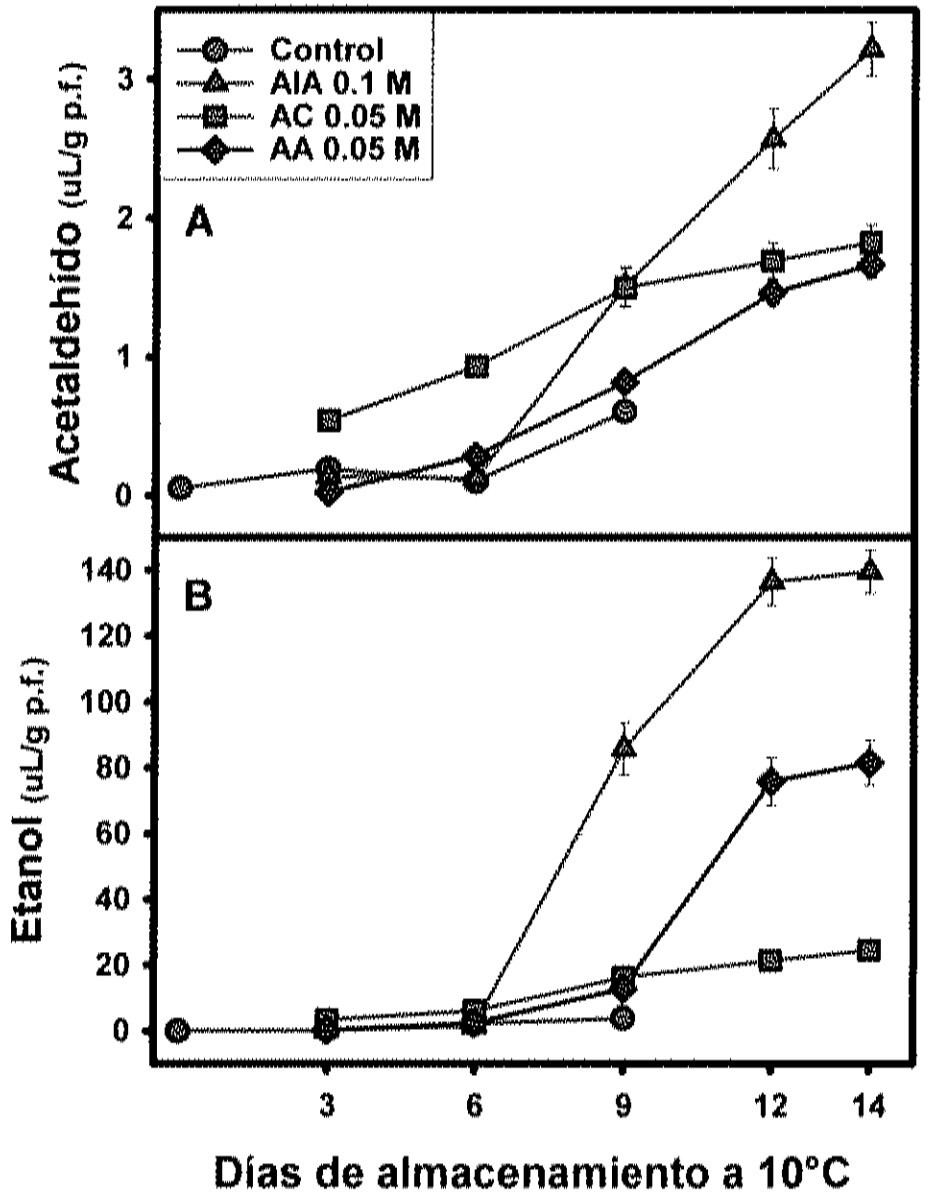


Figura 16. Contenido de acetaldehído y etanol en rodajas de piña fresca, tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=5$).

dentro del envase. Cabe mencionar, que los niveles de O_2 y CO_2 encontrados dentro del envase conteniendo las rodajas de piña, no fueron los suficientes para provocar los procesos de anaerobiosis (Figura 4). Se ha reportado que el etanol y acetaldehído normalmente son acumulados durante la maduración de piña (Paull, 1997). Por lo tanto, la acumulación observada de estos compuestos volátiles en las rodajas de piña fresca, podrían estar más relacionados a los tratamientos aplicados y a los procesos de senescencia que a los cambios en la atmósfera dentro del envase durante el almacenamiento.

La acumulación de etanol y acetaldehído en las rodajas de piña, no afectaron las características sensoriales del producto. Esto se comprobó al evaluar subjetivamente el aroma del producto, inmediatamente después de abrir los envases después de haber estado 7 y 14 días a 10°C. Ni tampoco se detectaron sabores indeseables (fermentación alcohólica) al analizar las rodajas de piña con los niveles de etanol y acetaldehído más altos. Este mismo procedimiento es el seguido por diferentes trabajos realizados en la Universidad de Davis, California, USA, por el grupo del Dr. Adel Kader. Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios sensoriales más profundos que comprueben con un panel entrenado, los posibles efectos que pudieran tener los tratamientos con antioxidantes, en las características sensoriales de rodajas de piña. Está contemplado llevar a cabo este tipo de estudios, en trabajos posteriores.

Se ha reportado que la acumulación de compuestos volátiles productos de la fermentación anaeróbica, desaparecen rápidamente cuando se expone el producto por unos minutos a la atmósfera normal de 21% O_2 y 0.03% CO_2 (Gil y col., 1998). En otro estudio se encontró que el uso de atmósferas conteniendo 2-4% O_2 y 5-10% CO_2), prolongó la vida de anaquel de rodajas de kiwi. Sin embargo, los niveles de etanol y acetaldehído detectados son 8 y 5 veces superior a los observados en rodajas de piña (Agar y col., 1999). Otros investigadores han encontrado que el almacenamiento de rodajas de manzana

en 15-30% CO_2 y 10% de O_2, reduce en un 50% los productos de fermentación, comparado cuando se almacena directamente en 15% de CO_2 y 5% de O_2 (Gunes y col., 2001).

Se ha reportado, que la percepción de estos volátiles por los consumidores, depende principalmente de su concentración en el tejido vegetal y de la capacidad de detección de la persona (Ke y col., 1991). Flath y col. (1967), reportaron que los niveles de percepción de etanol, acetaldehído y etil acetato en manzanas "Deliciuous" era de 100, 0.015 y 5 µL-L, respectivamente. Hasta el momento, no se ha encontrado ningún trabajo que describa los niveles mínimos de percepción de estos volátiles en rodajas de piña. Por lo que se recomienda, llevar a cabo estudios posteriores para identificar los límites de detección por parte del consumidor en rodajas de piña almacenadas bajo estas condiciones.

Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos de mayor abundancia en frutos de piña son: el ácido *p*-coumárico (0.11-0.44 mg/g), ácido caféico (0.008-0.08 mg/g), ácido *p*-hidroxibenzóico (0.02-0.11 mg/g), ferúlico (0.011-0.17 mg/g) y sinápico (0.022-0.064 mg/g) (Fernández de Simón y col., 1992). El oscurecimiento del tejido de frutos y vegetales, es una de las mayores causas de la pérdida de calidad (Mathew y Parpia, 1971). El desarrollo del oscurecimiento esta primeramente relacionado con la oxidación de los compuestos fenólicos, catalizada por la enzima PPO, causando la formación de quinonas, las cuales son polimerizadas y forman pigmentos negros, cafés y pardos (Mayer, 1987). En general, se ha visto que la enzima PPO cataliza la oxidación de los fenoles, dando como resultado el oscurecimiento que favorece el deterioro del tejido vegetal (Macheix y col., 1990).

La Figura 17 muestra los cambios en el contenido de fenoles expresados como equivalentes de ácido caféico de las rodajas de piña tratadas con los diferentes antioxidantes. Se puede observar que el contenido de fenoles

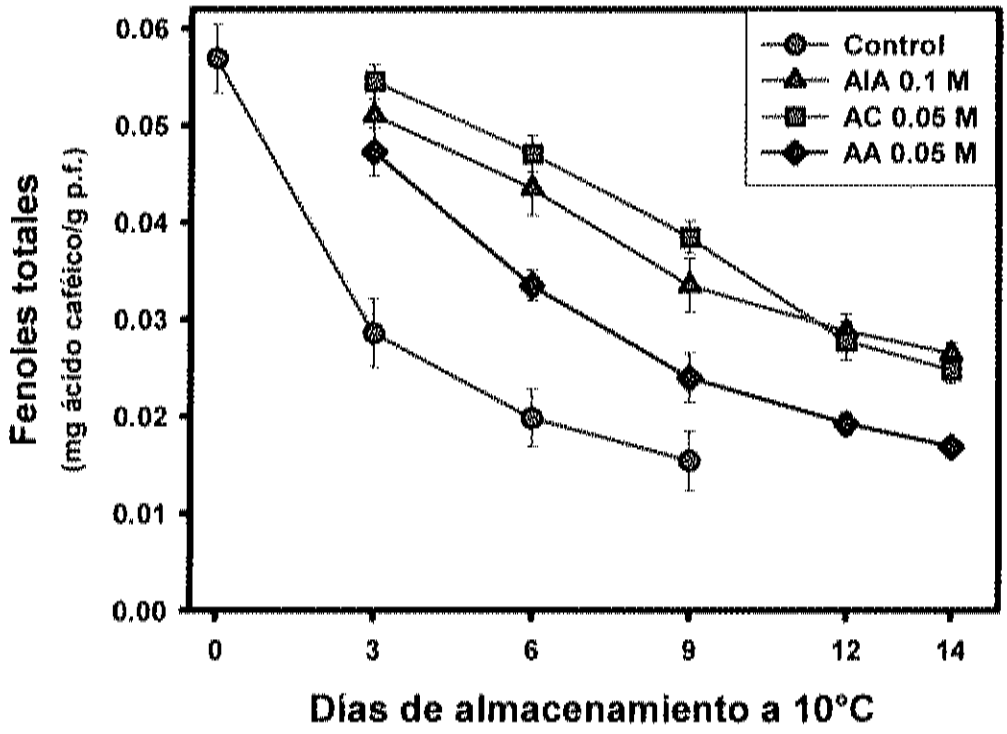


Figura 17. Cambios en el contenido de fenoles totales en rodajas de piña fresca tratadas con diferentes agentes antioxidantes y envasadas en AM, almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=9$).

disminuyó rápidamente en los frutos control, alcanzando niveles de aproximadamente 0.015-0.018 mg/g de peso fresco, después de 9 días a 10°C, siendo estos cambios significativos ($p<0.05$) con respecto a las rodajas tratadas con AIA y AC. La concentración de fenoles fue disminuyendo con el tiempo de almacenamiento siguiendo un patrón parecido, alcanzando niveles muy similares en los frutos tratados con los distintos antioxidantes. La disminución en el contenido de fenoles fue mas lenta en las rodajas de piña tratadas con AC 0.05 M, AIA 0.1 M y AA 0.05 M, respectivamente. Los tratamientos con AC 0.05 M y AIA 0.1 M retrasaron la disminución en el contenido de fenoles durante el almacenamiento de las rodajas a 10°C. Estos resultados concuerdan con los reportados previamente en frutos de manzana, donde los tratamientos de AA y AIA reducen la pérdida de fenoles (Amiot y col., 1992; Gil y col., 1997). El AA y AIA reducen las quinonas, producto de la reacción de la PPO con los compuestos fenólicos, previniendo de esta manera el oscurecimiento en frutos y vegetales cortados. Sin embargo, Gil y col. (1998) reportaron que la aplicación individual de AA favorece el ablandamiento y promueve el deterioro de rodajas de pera "Fuji". En este estudio, el deterioro de las rodajas de piña, se favoreció significativamente con el uso de concentraciones de AA 0.05 M y AIA 0.1 M.

Algunos compuestos fenólicos son buenos sustratos en las reacciones de oscurecimiento, pero también pueden tener actividad antioxidante. A bajas concentraciones pueden actuar como antioxidantes, mientras que a altas concentraciones son muy susceptibles a los procesos de oxidación (Robards y col., 1999). En el presente trabajo parece ser que la rápida disminución en el contenido de fenoles en los frutos control, puede deberse a que fueron utilizados como sustratos por la PPO, produciendo compuestos que provocaron el oscurecimiento de la superficie de la piña cortada. Es importante resaltar que las rodajas que presentaron los índices de oscurecimiento más bajos, se observó una menor disminución en el contenido de fenoles y mayores valores de "L" (Figura 11, 17 y 6).

Molnar y Friedman (1990), reportaron que el oscurecimiento enzimático de rodajas de manzanas se disminuyó significativamente con la exclusión de O_2 dentro del envase. Sin embargo, en calabaza troceada no se observó ningún efecto de la atmósfera en el contenido de fenoles (Kaji y col., 1993). En el presente estudio, se encontró que los cambios de O_2 y CO_2 dentro del envase no afectaron los niveles de fenoles del tejido vegetal, ya que tratamientos que tuvieron niveles similares en el contenido de O_2 y CO_2 presentaron un contenido de fenoles diferente (Figura 4 y 17).

Polifenoloxidasa

El daño causado durante el procesamiento de frutos y vegetales, trae como resultado un incremento en el grado de respiración y producción de C_2H_4 (Abe y Watada, 1991). De igual manera, se incrementan las reacciones bioquímicas relacionadas con el cambio de color, sabor, textura, calidad nutrimental y susceptibilidad a la deshidratación y al ocurrir la ruptura de las células entran en contacto enzimas y sustratos (como compuestos fenólicos y PPO) responsables del oscurecimiento. Durante el almacenamiento estos cambios limitan su vida de anaquel (Brackett, 1994; O'Connor y col., 1994).

Son varios los métodos estudiados para inhibir el oscurecimiento en frutos y vegetales cortados. Algunos de estos son el EAM, ya que se ha observado en rodajas de manzana que el EAM aunado con un almacenamiento a bajas temperaturas previene el oscurecimiento (Anese y col., 1997). Siriphanich y Kader (1985), reportaron que la presencia de niveles de CO_2 de 5% inhibe la actividad enzimática de la PPO.

En el presente estudio se observó que la actividad de PPO disminuyó rápidamente después de 3 días a 10°C en los frutos control, a niveles de 945 unidades de PPO, y después de 6 y 9 días a 10°C alcanzó niveles de 705 unidades de PPO. La actividad de PPO en los frutos control fue

significativamente ($p<0.05$) superior a la observada en los frutos tratados con los antioxidantes utilizados (Figura 18).

La actividad de la PPO en las rodajas tratadas con AC y AA siguió un comportamiento similar a los frutos control, pero con valores más bajos. La actividad de PPO disminuyó paulatinamente durante el período de almacenamiento de una manera similar en los frutos tratados con los distintos antioxidantes utilizados. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) en la actividad de PPO entre dichos tratamientos. La menor actividad de PPO se observó en las rodajas tratadas con AC, después de 6 y 9 días a 10°C. Sin embargo, después de 12 y 14 días a 10°C los valores de PPO fueron similares en los frutos tratados con AC y AIA. Al final del almacenamiento se observó un ligero aumento de la actividad de PPO en las rodajas tratadas con AA 0.05, el cual no fue estadisticamente significativo ($p>0.05$). La actividad de PPO fue superior en las rodajas control que en las tratadas con los antioxidantes, durante el almacenamiento a 10°C.

Se puede observar que la mayor actividad de la enzima la presentan los frutos que presentaron los mayores síntomas de deterioro y oscurecimiento (Figura 9, 11 y 18). Los frutos control fueron los que presentaron la mayor actividad de PPO y la mayor disminución en el contenido de fenoles, así como los mayores índices de deterioro y oscurecimiento. A diferencia de los frutos tratados con los antioxidantes que fueron los que presentaron valores menores de actividad de PPO, contenido de fenoles y presentaron los menores síntomas de deterioro y oscurecimiento.

Se observó una mayor reducción de la actividad de PPO, en las rodajas tratadas con AIA y AC. Sin embargo, estos tratamientos no inhibieron por completo la actividad enzimática de PPO. Los resultados reportados por Rocha y Morais (2001), en cubos de manzanas "Jonagored", concuerdan con los encontrados en las rodajas de piña, donde la mayor disminución en los niveles de la variable L y el índice de oscurecimiento se correlacionaron con la mayor

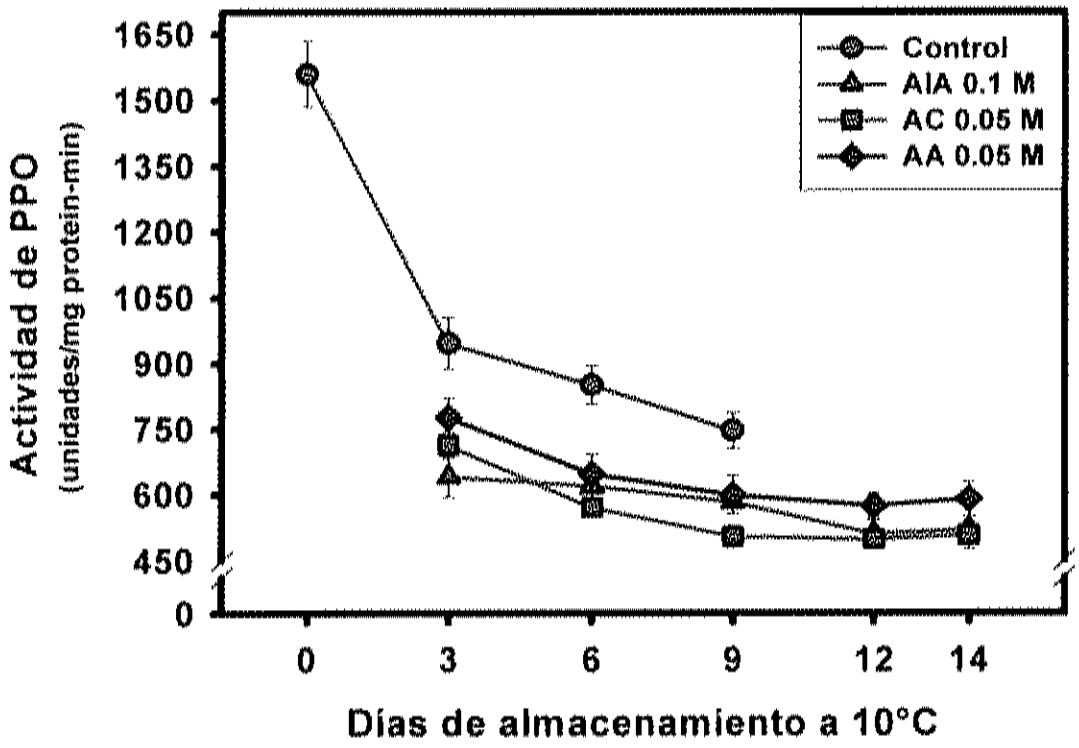


Figura 18. Efecto del tratamiento de compuestos antioxidantes y envasado, sobre los cambios en la actividad de PPO en rodajas de piña fresca almacenadas 14 días a 10°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ($p<0.05$) ($n=6$).

actividad de la enzima PPO (r^2=-0.57 y r^2=0.62, respectivamente). Barrett y col. (1991), encontraron una correlación muy baja en el contenido de fenoles y oscurecimiento en manzanas "Deliciuos" almacenadas a 0°C. En nuestro estudio, se encontró una correlación de r^2=-0.5, entre el contenido de fenoles y la actividad de PPO. De la misma forma, Coseteng y Lee (1987), encontraron una alta correlación entre los niveles de fenoles totales y la actividad de PPO con el grado de oscurecimiento de manzanas. En este caso, la actividad de PPO disminuyó de 14000 a 4000 unidades/g, durante el período de maduración. El mismo comportamiento se observó durante el desarrollo y maduración de duraznos (Flurkey y Jen, 1978). Sin embargo estos autores no reportan los cambios en PPO durante el almacenamiento del producto.

Hasta el momento no existen trabajos que describan los cambios en actividad de la enzima PPO en piña cortada tratada con estos antioxidantes. Sin embargo, Das y col. (1997) llevaron a cabo la purificación de PPO en piña de la variedad "Kew" y evaluaron in vitro el efecto de varios inhibidores y sustratos en la actividad de la enzima purificada. La máxima actividad de PPO se encontró cuando se utilizó catecol como sustrato, la cual fue de 17,643 unidades/mg proteína. De la misma forma, en el presente estudio se encontró una respuesta similar en la actividad de PPO con el sustrato catecol.

Estos autores observaron que el AA a una concentración de 1.5 mM fue el mejor inhibidor, seguido de L-cisteína (1.5mM) y metabisulfito de potasio (3 mM). Resultados similares fueron observados en frutos de plátano tratados con estos inhibidores (Galeazzi y Sgarbieri, 1981). Al parecer los mecanismos de inhibición de los antioxidantes difieren dependiendo del agente reductor utilizado.

Golan-Goldhirsh y Whitaker (1984) observaron que la aplicación de AA produjo una inhibición irreversible de la actividad de la PPO en champiñones. En lechuga cortada almacenada a 4°C, se observó que la actividad de PPO aumentó con la decoloración del tejido, de la misma forma la mayor actividad se

encontró en el tejido que presentaban síntomas de deterioro (ataque de patógenos) (Zhang y col., 2000). Probablemente, la mayor actividad encontrada en las rodajas de piña control a medida que aumentó el almacenamiento a 10°C, podría estar asociada de igual forma a los procesos de deterioro ocurridos durante este período (oscurecimiento y desarrollo de patógenos).

De los diferentes trabajos que se han realizado en frutos y vegetales cortados, donde se han utilizado inhibidores de PPO o antioxidantes, son casi nulos los que estudian a fondo el efecto así como los cambios en la actividad de PPO, después del tratamiento y durante el almacenamiento. El valor L^* es, por lo general, utilizado en frutos y vegetales cortados como una medida de la efectividad en la inhibición de la actividad enzimática de PPO, por lo agentes antioxidantes. Esta medida ha sido reportada en manzanas cortadas (Buta y col., 1999), plátano (Moline y col., 1999), rábanos (González-Aguilar y col., 2001), peras (Buta y Abbott, 2000; Gorny y col., 2002), jícama (Aquino-Bolaños y col., 2000) entre otros. De la misma forma, se ha reportado el índice de oscurecimiento como una medida subjetiva confiable del oscurecimiento enzimático que ocurre en diferentes frutos cortados (Willey, 1994; Whitaker y Lee, 1995).

Al parecer varios factores están involucrados en las reacciones de oscurecimiento en las rodajas de piña. Los niveles de sustratos, actividad de la enzima y la presencia de inhibidores utilizados, afectan de diferente manera las reacciones de oscurecimiento. Sin embargo, parece ser que el principal factor involucrado en la reducción del oscurecimiento en la superficie de las rodajas de piña, sean la presencia exógena de los inhibidores del oscurecimiento utilizados.

Vida de Anaquel

La época de cosecha y el estado de madurez del producto son factores muy importante a tomar en cuenta en el procesamiento de frutas y vegetales cortados (Wiley, 1994). Se ha visto que el contenido de vitaminas, azúcares y ácidos orgánicos se ve afectado por la época de cosecha y por tanto puede modificar la vida de anaquel del producto. Este tipo de alteraciones es más común en frutos de origen tropical y subtropical (Mitra 1997). El índice de cosecha de frutos de piña es cuando los frutos alcanzan un color verde amarillo de la cáscara, un contenido entre 10-12 °Brix y una acidez entre 0.5-1.6% máxima de 1.2%. En este estudio, se emplearon frutos que se encontraban en estos rangos, en todos los experimentos realizados.

En el presente trabajo, se encontró que la época de cosecha afectó considerablemente la vida de anaquel del producto tratado con el mejor tratamiento (AIA) (Figura 19). Frutos cosechados en los meses de Octubre, Noviembre y Enero, y tratados con los distintos compuestos antioxidantes tuvieron la mayor vida de anaquel (14-16 días a 10°C). Mientras que los cosechados los meses de Febrero, Marzo, Junio y Agosto tuvieron una vida de anaquel de 12, 10, y 9 días, respectivamente. Los frutos control (sin tratar) tuvieron una vida de anaquel de tan solo 7-9 días, mientras que en el resto del año, no superó los 5 días a 10°C. Al parecer, la efectividad de los compuestos antioxidantes esta relacionada con las características de calidad del producto y a las condiciones ambientales a las que estuvo expuesto el producto durante su desarrollo. Esto debido a que las condiciones, método de pelado, cortado, preparación de las soluciones y aplicación de las mismas, siempre fueron estrictamente controladas. En un estudio previo se encontró que las rodajas de piña fresca sin tratar y almacenada a 0°C, tenían una vida de anaquel que no superaba los 8 días (Lambrecht, 1995). Sin embargo, no se menciona la época de cosecha del producto, ni las características físico-químicas del producto al

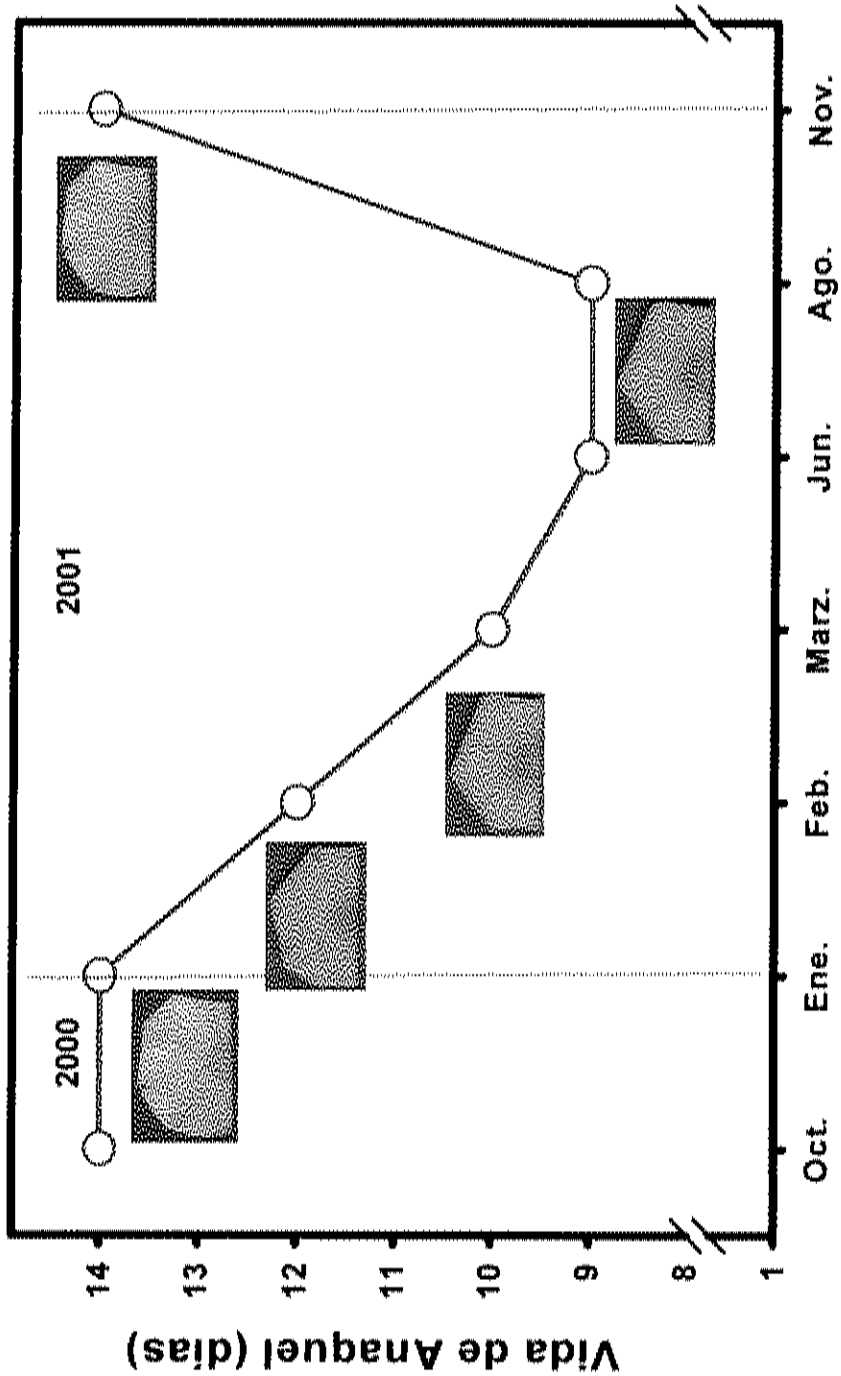


Figura 19. Vida de anaquel de rodajas de piña fresca y efectividad del AIA 0.1 M de acuerdo a la época de cosecha.

momento del tratamiento con los antioxidantes. Paull y Reyes (1996), reportaron que las altas temperaturas en campo afectan los procesos de maduración y de senescencia de piña. Estas pueden causar maduración prematura, ablandamiento del tejido e incrementar la deshidratación del tejido, lo cual puede dar como resultado una mala apariencia del producto. Es posible que en nuestro estudio las temperaturas encontradas en estos meses hayan influido considerablemente en la vida de anaquel del producto, como ya se ha visto previamente (Paull y Reyes, 1996).

Se ha evaluado la efectividad de diferentes compuestos antioxidantes en algunas variedades de frutos y vegetales cortados (durazno, nectarina, pera). Sin embargo, no se ha reportado la eficacia de dichos antioxidantes en distintas épocas de cosecha. Por lo que, los resultados encontrados en el presente estudio, abren un nuevo escenario a tomar en cuenta por los productores, cuando la intención sea la de procesar frutos y vegetales en diferentes épocas del año.

Gorny (2001), reportó que durante la época del año se tienen problemas con los consumidores, debido a la inconsistencia en la calidad que presentan los frutos y vegetales cortados, en especial los de origen tropical y subtropical. Generalmente, el consumidor asume que si el producto se ve bien, sabe bien. Sin embargo, esto ha ocasionado que algunos productos tratados con compuestos antioxidantes y antimicrobianos, tengan una buena apariencia, pero un mal sabor. Por ello, es necesario tener muy en cuenta los cambios que pueden ocasionar el uso de estos compuestos en las características sensoriales del producto.

CONCLUSIONES

En general, los tratamientos aplicados a las rodajas de piña, disminuyeron el oscurecimiento (medido con el valor L^* y b^*) y deterioro con respecto al control.

El tratamiento más efectivo fue el de AIA 0.1 M, seguido del AC 0.05 M y AA 0.05 M. Con estos tratamientos se logró aumentar la vida de anaquel de las rodajas de piña por 6-7 días, respecto al control.

Los niveles de O_2 y CO_2 encontrados dentro de los envases conteniendo a las rodajas de piña, no provocaron procesos de anaerobiosis. Al parecer los niveles de etanol y acetaldehído encontrados en el tejido de piña, se debe al mismo proceso de senescencia del fruto, ya que estos volátiles son naturalmente acumulados en el fruto de piña.

En general, las rodajas tratadas con los antioxidantes y los controles presentaron una tendencia similar en aumentar el porcentaje de exudado y en la disminución de la firmeza. Sin embargo, las rodajas tratadas con AIA 0.1 M presentaron los valores más altos de exudado y firmeza, lo que nos indica rodajas más frescas y de mejor apariencia.

No se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) en los cambios de pH, SST, AT, y contenido de azúcares entre los tratamientos evaluados y el control, durante el almacenamiento a 10°C, lo que nos indica que no fueron afectados estos parámetros de calidad de rodajas de piña fresca.

No se observaron cambos significativos en los niveles de ácido ascórbico entre las rodajas control y las tratadas con AC. Al parecer la AC no afectó los niveles endógenos durante el almacenamiento. Los altos niveles de ácido ascórbico en las rodajas tratadas con AIA 0.1 M y AA 0.05 M podrían deberse a la aplicación exógena de estos.

El contenido de fenoles totales fue muy parecido entre los tratamientos con los antioxidantes, pero superiores a los encontrados en los frutos control. Estos

niveles se relacionaron con los menores cambios en color (L^* y b^*) y menor actividad de PPO.

Se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) en la actividad de la PPO entre las rodajas control y las tratadas con los diferentes antioxidantes. La mayor actividad la presentaron las rodajas control (esto podría deberse a que no presentaron efecto de ningún antioxidante), de igual forma podría deberse a que presentaron los mayores síntomas de deterioro, ya que al dañarse la célula se liberaron enzimas y sustratos y al entrar en contacto, esta actividad aumento. La reducción de la actividad por los antioxidantes, podría deberse a la inhibición de la enzima.

De acuerdo a los resultados encontrados, se concluye que los tratamientos con AIA 0.1 y AC 0.05 M en combinación con el EAM, podrían utilizarse para inhibir el oscurecimiento y deterioro, y mantener la calidad de rodajas de piña por un periodo de hasta 14 días a 10°C.

Sin embargo, se requieren estudios adicionales para conocer la efectividad de estos tratamientos a diferentes temperaturas. De igual manera, se recomienda llevar a cabo evaluaciones sensoriales con un panel entrenado, para conocer los efectos de estos tratamientos en las características sensoriales del producto.

La época de cosecha afectó significativamente la efectividad de los tratamientos. Por lo que es un factor que hay que tomar muy en cuenta, para el procesado de frutos de piña.

Los resultados encontrados en este estudio son de gran utilidad para los productores de piña. Ya que se ofrece una nueva alternativa de comercialización del producto, con un valor agregado. Dando como resultado la diversificación de sus mercados de consumo y mayores volúmenes de producto en el anaquel. Aunado a la gran demanda existente en el consumo de productos frescos cortados.

BIBLIOGRAFÍA

Abbey, S.D., Heaton, E.K., Golden, D.A. y Beuchat, L.A. 1988. Microbiological and sensory quality changes in unwrapped and wrapped sliced watermelon. *J. Food Prot.* 51:531-533.

Abe, K. y Watada, A.E. 1991. Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 56:1589-1592.

Abeles, F.B., Morgan, P.W. y Salveit, M.E. 1992. Ethylene in plant biology, San Diego: Academic Press.

Agar, I.T., Massantini, R., Hess-Pierce, B. y Kader, A.A. 1999. Postharvest CO_2 and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut Kiwifruit slices. *J. Food. Sci.* 64(3): 433-440.

Ahvenainen, R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Sci. and Technol.* 7: 179-187.

Ahvenainen, R. 2000. Ready-to-use fruit and vegetables. Flair-flow Europe technical manual. Mayo 2000, pp. 1-10.

Akamine, E.K. 1976. Problems in shipping fresh Hawaiian tropical and subtropical fruits. *Acta Hort.* 57: 151.

Amanatidou, A., Slump, R.M., Gorris, L.G.M. y Smid, E.J. 2000. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimall processed carrots. *J. Food Sci.* 65(1): 61-66.

Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S.Y. y Nicolas, J. 1992. Phenolic composition and browning susceptivility of various apple cultivars and maturity. *J. Food Sci.* 57: 958-962.

Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S.Y. y Oleszek, W. 1995. Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning in pear fruits. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1132-1137.

Anese, M., Manzano, M. y Nicoli, M.C. 1997. Quality of minimally processed apple slices using different modified atmosphere conditions. *J. Food Quality*. 20: 359-370.

Anonimous. 1998. Agricultural Marketing Service. Quality through verification program for the fresh-cut produce industry. The Federal Register. 63 (172(September 4, 1998)). 47220-47224.

Anonimous. 1999. Fresh-cut produce industry overview, 1999. Produce Marketing Association. 1-6.

Anonimous. 2000. Supplying quality cantaloupe for fresh-cut processing. Fresh Cut. (January), 6-12.

AOAC. 1990. Association of Official Agricultural Chemistry. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12 th. De Washington D.C.U.S.A.

Aquino-Bolaños, E.N., Cantwell, M.I., Peiser, G. y Mercado-Silva, E. 2000. Changes in the quality of fresh-cut jicama in relation to storage temperatures and controlled atmosphere. *J. Food Sci.* 65(7):1238-1243.

Artés, F. 1995. Innovaciones en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad hortícola en la posrecolección. III. Tratamientos gaseosos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 35(3): 247-269.

Artés, F., Castañer, M., y Gil, M.I. 1998. Revisión: El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Food Sci Technol Int.* 4(6): 377-389.

Ayhan, Z., Chism, G.W. y Richter, E.R. 1998. The shelf life of minimally processed fresh-cut melons. *J. Food Qual.* 21: 29-40.

Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995. Use of edible coating to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35: 509-524.

Ballantyne, A., Stark, R. y Selman, J. 1988. Modified atmosphere packaging of shredded lettuce. *Intl. F. Food Sci. and Technol.* 23: 267-274.

Barret, D.M., Lee, C.Y. y Liu, F.W. 1991. Changes in "Delicius" apple browning and softening during controlled atmosphere storage. *J. Food Qual.* 14: 443-453.

Barry-Ryan, C. y O'Beirne, D. 2000. Effects of peeling methods on the quality of ready-to-use carrot slices. *Int. J. Food Sci. and Technol.* 35: 243-254.

Barry-Ryan, C., Pacussi, J.M. y O'Beirne, D. 2000. Quality of shredded carrots as affected by packaging film and storage temperature. *J. Food Sci.* 65(4): 726-730.

Bartolomé, A.P., Ruperez, P. y Fuster C. 1996. Freezing rate and frozen storage effects on color and sensory characteristics of pineapple fruit slices. *J. Food Sci.* 61(1): 154-170.

Baruach, P. y Swain, T. 1959. The actino of potato phenolase on flavonoid compounds. *J. Sci. Food Agric.* 10:125.

Beaulieu J.C., Bett K. L., Champagne E. T., Ingram D. A., y Miller J.A. 1999. Flavor, sensory and postharvest evaluations of commercial-versus tree-ripe fresh-cut 'Bounty' peaches. *HortSci.*34:504.

Beaudry, R.M. 2000. Response of horticultural commodities to low oxygen: limits to the expanded use of MAP. *HortTechnol.* 10: 491-500.

Bett K.L., D.A. Ingram, C.C. Grimm, S.W. Lloyd, A.M. Spainer, J.M. Miller, K.C. gross, E.A. Baldwin, B.T. Vinyard. 2001. Flavor of fresh-cut 'Gala' apples in modified atmosphere packaging as affected by storage time. *J. Food Qual.* In Press.

Beuchat, L.R. y Brackett, R.E. 1990. Survival and growth of *Listeria monocyfogenes* on lettuce as influenced by shredding chloride treatment modified atmosphere packaging and temperature. *J. Food Sci.* 55: 755, 870.

Beuchat, L.R., Nail, B.V., Adler, B.B. y Clavero, M.R.S. 1998. Efficacy os spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. *J. Food Prot.* 61(10): 1305-1311.

Buta, J.G. y Abbott, J. 2000. Browning inhibition of three cultivars of fresh-cut pears. *HortSci.* 35(6): 1111-1113.

Cameron A.C., Talasila, P.C. y Joles, D.W. 1995. Predicting film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30(1):25-34.

Cano, M.P., Lobo, M.G. y De Ancos, B. 1998. Peroxidase and polyphenol oxidase in long-term frozen stored papata slices. Differences among hermaphrodite and female papaya fruits. *J. Sci. Food Agric.* 76: 135-141.

Cantwell, M. 1996. Comparing comercial salad products. *Fresh-cut.* 4(11): 8-9, 18.

Cantwell, M.I. y Portela, S.I. 1997. Comparing varieties and storage methods. Fresh Cut. (October). 14-18.

Cantwell, M. 1998. Introduction to fresh-cut products: maintaining quality and safety. University of California, Posth. Hort., Series No. 10, Section 1.

Carlin, F., Nguyen-the, C., Hilbert, G. y Chambroy, Y. 1990. Modified atmosphere packaging of fresh, "Ready-to-use" grated carrots in polymeric films. *J. Food Sci.* 55(4): 1033-1038.

Cartazo, C.B.C., Sargent, S.A y Huber, D.J. 1997. Controlled atmosphere storage suppresses microbial growth on freshcut watermelon. *Proc. Fla. Sta. Hort. Soc.* 110:252-257.

Chen, N.J. y Paull, R.E. 1995. Effetcs of waxing and storage on pineapple fruit quality. *Proceeding of the Inter. Symposium on Posh. Sci. and Technol. Hort. Crops*, Beijing, China, 27 June-1 July.

Conway W.S., Leverentz, B., Saftner, R.A., Janisiewicz, W.J., Sams, C.E. y Leblanc, E. 2000. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut apple slices and its interaction with *Glomerella cingulata* and *Penicillium expansum*. *Plant Disease.* 84(2):177-181.

Coseteng, M. y Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentrations in relations to degree of browning. *J. Food Sci.* 52: 985-989.

Dao, L. y Friedman, M. 1992. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2152-2156.

Das, J.R., Bhat, S.G. y Gowda, L.R. 1997. Purification and characterization of a polyphenol oxidase from the Kew cultivar of indian pineapple fruit. *J. Agric. Food. Chem.* 45(6): 2031-2035.

Davis, P.L. y Chace, W.G. Jr. 1969. Determination of Alcohol in Citrus Juice by Gas Chromatographic Analysis of Headspace. *HortSci.* 4(2): 117-119.

Doner, L.W. y Hicks, K.B. 1981. High-performance liquid chromatographic separation of ascorbic acis, erythorbis acid, dehydroascorbic acid, dehydroerythorbic acid, diketogulonic acid and diketogluconic acid. *Analytical Biochem.* 115: 225-230.

Dong, X., Wrolstad, R.E. y Sugar, D. 2000. Extending shelf life of fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 65: 181-186.

Dudley E.D. y Hotchkiss, J.H. 1989. Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. *J. Food Biochem.* 13:65-75.

Dull, G.G. 1971. The pineapple: General, in *The Biochemestry of Fruits and Their Products.* Vol. 2. Hulme, A.C. Ed. Academic Press, New York. pp. 303.

Dull, G.G.; Young, R.E.; Biale, J.B. 1967. Respiratory patterns in fruti of pineapple, *Ananas comosus*, detached at different stages of development. *Physiol. Plant.* 20: 1059-1065.

Dull, G.G. 1975. The pineapple. *The Biochemistry of fruits and their products.* Vol. 2. (A.C. Hulme, ed.), Academic Press, London and New york. pp. 303-324.

Fernández de Simón, B., Perez, J.P., Hernández, T. Gómez, C.C. y Estrella, I. 1992. Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1531-1535.

Fito, P. y Chiralt, A. 2000. Vacuum impregnation of plant tissues. In minimally processed fruits and vegetables. Fundamental aspects and applications. Alzamora, S., Tapia, M. y López-Malo, A. (Editores). An aspects publication gaithers burg, MD, USA. Pp. 189-201.

Flath, R.A. 1986. Pineapple. In Nagy, S. y Shaw, P.E. (eds) *Tropical and subtropical Fruits: Composition, properties and uses*. AVI Publishing Inc., Westport, Connecticut, pp. 157-183.

Flath R.A., D.R. Black, D.G. Guadagni, W.H. McFadden, T.H. Schultz. 1967. Identification and organoleptic evaluation of compounds in Delicious apple essence. *J. Agric. Food Chem.* 15(1):29-35.

Flurkey, W.H. y Jen, J.J. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43: 1826-1832.

Francis, G.A. y O'Beirne, D. 1997. Effects of gas atmosphere, antimicrobial dip and temperature on the fate of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed lettuce. *Int. J. Sci. and Technol.* 32: 141-151.

Friedman, M. 1996. Food browning and its prevention: an overview. *J. Agric. and Food Chem.* 44: 631-653.

Galeazzi, M.A.M. y Sgarbieri, V.C. 1981. Substrate specifity and inhibition of polyphenol oxidase from a dwarf variety of banana *Musa cavendishii* L. *J. Food Sci.* 46. 1404-1406.

Gil, M.I., Artés, F. y Tomás-Barberán, F.A. 1996. Minimal processing and modified atmosphere packaging effects on pigmentation of pomegranate seeds. *J. Food Sci.* 61: 161-164.

Gil, M.I., Gorny, J.R. y Kader, A.A. 1997. Postharvest physiology and quality of "Fuji" apple slices in response to ascorbic acid treatments and low oxygen atmospheres. *HortSci.* 4(3): 42-48.

Gil, M.I., Gorny, J.R. y Kader, A.A. 1998. Responses of "Fuji" apple slices to ascorbic acid treatments and low-oxigen atmospheres. *HortSci.* 33(2): 305-309.

Golan-Goldhirsh, A. y Whitaker, J.R. 1984. Effects of ascorbic acid, sodium bisukfite and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 32. 1003-1009.

González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y. y Buta, J.G. 2000. Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *J. Agric. Food Chem.* 48(9): 4204-4208.

González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y. y Buta, J.G. 2001. Inhibition of browning and decay of fresh-cut radishes by natural compounds and their derivatives. *Lebensm-Wiss. U-Technol.* 34(5):324-328.

Gorny, J.R. 1997. Modified atmosphere packaging and the fresh-cut revolution. *Perishables Handling News.* 90: 4-5.

Gorny, J.R. y Kader, A.A. 1996. Fresh-cut fruit products. Fresh-cut Products: Maintaining Quality and Safety: 1-14. UCD postharvest horticulture Series, No. 10. 14.

Gorny, J.R. 1998. A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. 5: Fresh-cut Fruits and Vegetables and MAP: 30-66. Postharvest Hortic. Series No. 19. CA '97. Proceedings. Seventh International. Controlled Atmosphere Research Conference. Ed. Gorny, J.R.

Gorny, J.R., Hess-Pierce B., y Kader, A.A. 1998a. Effects of fruit ripeness and storage temperature on the deterioration rate of fresh-cut peach and nectarine slices. *HortSci.* 33(1):110-113.

Gorny, J.R., Gil, M.I. y Kader, A.A. 1998b. Postharvest physiology and quality maintenance of fresh-cut pears. *Acta hortic.* 464:231-236. Postharvest 96.

Gorny, J.R., Hess-Pierce, B. y Kader, A.A. 1999. Quality changes in fresh-cut peach and nectarine slices as affected by cultivar, storage atmosphere and chemical treatments. *J. Food Sci.* 64(3): 429-432.

Gorny, J.R., Cifuentes, R.A., Hess-Pierce, B. y Kader, A.A. 2000. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *J. Food. Sci.* 65(3): 541-544.

Gorny, J.R. 2001. A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. International Fresh-cut Produce Association. Rotterdan, Holland, July 6-13.

Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A. y Kader, A.A. 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Posth. Biol. and Technol.* 24: 271-278.

Gortner, W.A. y Singleton, V.L. 1965. Chemical and physical development of the pineapple fruit III. Nitrogenous and enzyme constituents. *J. Food Sci.* 30: 24-28.

Gortner, W.A., Dull, G.G., Krauss, B.H. 1967. Fruit development, maturation, ripening and senescence: A biochemical basis for horticultural terminology. *HortSci.* 2: 141-144.

Guilbert, S., Gontard, N. y Cuq, B. 1995. Technology and applications of edible protective films. *Packag. Technol.* 8: 339-346.

Gunes, G. y Lee, C. 1997. Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *J. Food Sci.* 62: 572-575, 582.

Gunes, G., Watkins, C.B. y Hotchkiss, J.H. 2000. Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. *J. Sci. Food Agric.* 80(8): 1169-1175.

Gunes, G., Watkins, C.B. y Hotchkiss, J.H. 2001. Physiological responses of fresh-cut apple slices under high CO_2 and low O_2 partial pressures. *Posth. Biol. Technol.* 22: 197-204.

Gurbuz, G. y Lee, C.Y. 1997. Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *J. Food Sci.* 62: 572-575, 582.

Haagen-Smit, A.J., Kirchner, J.G., Prater, A.N. y Deasy, C.L. 1945. Chemical studies of pineapple (*Ananas sativa Lindl*). I. The volatile flavor and odor constituents of pineapple. *J Amer. Chem. Soc.* 67:1646-1652.

Heimdal, H., Falk Kuhn, B., Poll, L. y Melcher, L.L. 1995. Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged iceberg lettuce. *J. Food Sci.* 60: 1265-1268, 1276.

Hendricks, M.T. y Hotchkiss, J.H. 1997. Effect of carbon dioxide on the growth of *Pseudomonas fluorescents and Listeria monocytogenes* in aerobic atmosphere. *J. Food Protect.* 60: 1548-1552.

Hong, G., Peiser, G. y Catwell, M.I. 2000. Use of controlled atmospheres and heat treatment to maintain quality of intact and minimally processed green onions. *Posth. Biol. and Technol* . 20: 53-61.

Howard, L.R., Yoo, K.S., Pike, L.M. y Miller, G.H. 1994. Quality changes in diced onions stored in film packages. *J. Food. Sci.* 59: 110-112, 117.

Howard, L.R. y Hernández, B.C. 1996. Controlled atmosphere storage of chilly jalapeño. *J. Food. Sci.* 61: 645-650.

Hurst, W.C. 1995. Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30: 22-24.

Janh, M.S., Sanada, A., Ushio, H., Tanaka, M. y Ohshima, T. 2002. Inhibitory effects of "Enokitake" mushroom extracts on polyphenol oxidase and prevention of apple browning. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 35: 697-702.

Kader, A.A. 2001. Piña: Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. Posth. Technol. Resecar and Information Center. Department of Pomology, University of California, Davis, CA 95616.

Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. y Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47(10): 3954-3962.

Kaji, H., Ueno, M. y Yutaka, O. 1993. Storage of shredded cabbage under dynamically controlled atmosphere of high O_2 and high CO_2. *Bioscience Biotechnological Biochem.* 57: 1049-1052.

Katsumi, U.; Yukio, H.; Kazwaki, N.; Akihiro, S.; Tarayuki, S. 1992. Volatile constituents of green and ripened pineapple. *J. Agric. Food Chem.* 40: 599.

Ke, D., Rodriguez-Sinobas, L. y Kader, A.A. 1991. Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 253-260.

Kim, D.M., Smith, N.L. y Lee, C.Y. 1993. Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars. *J. Food Sci.* 58(5): 1115-1117-1175.

Kim, D.M., Smith, N.L. y Lee, C.Y. 1994. Effect of heat treatment on firmness of apples and apple slices. *L. Food Proc. Preserv.* 18:1-8.

King A.D. Jr. y H.R. Bolin.1989. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43(2):132-135.

Knight, R. Jr. 1980. Origin and world importance of tropical and subtropical fruit crops, in *Tropical and Subtropical Fruits*, Nagy, S. and Shaw, P. E., Eds., AVI Publishing, Westport, Conn., pp. 1.

Koh, K.B., Karwe, M.V. y Schaich, K.M. 1996. Effetcs of cysteine on free radical production and protein modification in extruded wheat flour. *Proteins.* 73: 115-122.

Kubo, Y., Inaba, A. y Nakamura, R. 1996. Extinction point and critical oxygen concentration in various fruits and vegetables. *J. Japan Society for Hort. Sci.* 65: 397-402.

Labuza, T.P., Lillemo, J.H. y Taoukis, P.S. 1992. Inhibition of polyphenol oxidase by proteolytic encimes. *Fruit Processing.* 2: 9-13.

Lambrecht, H.S. 1995. Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. In: Lee, C.Y. y Whitaker, J.R. (eds). Enzymatic browning

and its prevention. Washington, DC, USA; ACS Symposium Series 600, pp. 313-323.

Lamikanra, O., Chen, J.C., Banks, D. y Hunter, P.A. 2000. Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *J. Agric. Food Chem.* 48(12):5955-5961.

Lange, D. 1998. Eastern cantaloupe varieties and their potential for fresh-cut melon products. Fresh Cut. August17-18.

Laurila, E., Kervinen, R. y Ahvnainen, R. 1998. The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetable and fruits. *Posth. News and Information.* 9(4): 53-65.

Loaiza-Velarde, J.G., Tomás-Barberán, F.A. y Saltveit, M.E. 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *J. American Soc. for Hortic. Sci.* 122: 873-877.

Loaiza-Velarde, J.G. y Salveit, M.E. 2001. Heat shocks applied either before of after wounding reduce browning of lettuce leaf tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126(2): 227-234.

Lodh, S.B., Selvaray, Y., Chadha, K.L. y Melanta, K.R. 1972. Biochemical changes associated with growth and development of pineapple fruit variety Kew. II. Changes in carbohydrate and mineral constituents. *Indian J. Hortic.* 29: 287-291.

Lodh, S.B., Divacar, N.G., Chadha, K.L. y Melanta, K.R. y Selnaray, Y. 1973. Biochemical changes associated with growth and development of pineapple fruit variety Kew. III. Changes in plant pigments and enzyme activity. *Indian J. Hortic.* 30: 381-383.

Lozano-Gonzáles, P.G., Barret, D.M., Wrolstad, R.E. y Durst, R.W. 1993. Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice. *J. Food Sci.* 58(2): 399-404.

López, M.L., Lavilla, M.T., Riba, M. y Vendrell M. 1998. Comparison of volatile compounds in two seasons in apples: Golden Delicious and Granny Smith. *J. Food Qual.* 21:155-166.

Luna-Guzmán, I. y Barret, D.M. 2000. Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Posth. Biol. Technol.* 19: 61-72.

Luo, Y. y Barbosa-Cánovas, G.V. 1996. Preservation of apple slices using ascorbic acid and 4-hexylresorcinol. *Food Sci. and Technol. Int.* 2: 315-321.

Luo, Y. y Barbosa-Cánovas, G.V. 1997. Enzymatic browning and its inhibition in new apple cultivars slices using 4-hexylresorcinol in combination with ascorbic acid. *Food Sci. and Technol. Int.* 3: 195-201.

Macheix, J.J., Fleuriet, A. y Billot, J. 1990. Fruits Phenolics. CRC Press, Inc. Boca Raton Florida. pp. 1-24 and pp. 149-237.

Mateos, M., Ke, D., Cantwell, M. y Kader, A. 1993. Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO_2 enriched atmosphere. *Posth. Biol. and Technol.* 3: 225-233.

Matheis, G. y Whitaker, J.R. 1984. Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products. *J. Food Biochem.* 8: 137-162.

Mathooko, F.M. 1996. Regulation of ethylene biosynthesis in higher plants by carbon dioxide. *Posth. Biol. Technol.* 7: 1-26.

Mathew, A.G. y Parpia, H.A.B. 1971. Food browning as a polyphenol reaction. *Adv. Food Res.* 19: 75-145.

Mattila, M., Ahveneinen, R., Hurme, E. y Hyvonen, L. 1995. Respiration rates of some minimally processed vegetables. *Proceedings of Workshop on System and Operations for Post-harvest Quality* (De Baerdemaeker, J. *et al.*, eds), pp. 135-145, COST 94, Post-harvest Treatment of Fruit and Vegetables. Commission of the European, Brussels, Belgium.

Mauron, J. 1990.Influence of processing on nutritional quality. *J. Nutrit. and Sci. Vitaminology.* 111: 383-387.

Mayer, A.M. 1987. Polyphenol oxidases in plants. Resent progress. *Phytochem.* 26: 11-20.

Mencarelli, F. Botondi, F.G.R. y Tonutti, P. 1998. Postharvest physiology of peach and nectarine slices. *Acta Hortic.* 465: 463-470.

Merchetti, R., Casadei, M.A. y Guerzoni, M.E. 1992. Microbial Population Dynamic in Ready-to-use Vegetables Salads. *Ital. J. Food. Sci.* 2: 97-108.

McEvily, A.J., Iyengar, R. y Otwell, S. 1991. Sulphite alternative prevents shrimp melanosis. *Food Technol.* 45(9): 80-86.

McEvily, A.J. y Iyengar, R. 1992. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical reviews in Food Sci. and Nutrit.*32: 253-273.

Mercado-Silva, E., Rubatzky, V., Heredia-Zepeda, A. y Catwell, M.I. 1998. Variation in chilling susceptibility of jicama roots. *Acta Hort.* 467: 357-362.

Mitra, S.K. 1997. Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits (ed). CAB International. Oxon, U.K.

Moline, H.E., Buta, J.G. y Newman, I.M. 1999. Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivates. *J. Food Qual.* 22: 499-511.

Molnar-Perl, I.M. y Friedman, M. 1990. Inhibition of browning by sulfur amino acids. 3. Apples and potatoes. *Agric. Food Chem.* 38: 1652-1656.

Mondy, N.I. y Leja, M. 1986. Effects of mechanical injury on the ascorbic acid content of potatoes. *J. Food Sci.* 51: 355-357.

Montgomery, D.C. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. 3ra. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D.F.

Monsalve, G.A., Barbosa, C.G.V., McEvily, A.J., Cavallieri, R.P. y Iyengar, R. 1993. Control of browning during storage of apple slices by combed methods. 4-hexylresorcinol as an antibrowning agent. *Food Sci.* 58(4): 797-800.

Monsalve, G.A., Barbosa, C.G.V., McEvily, A.J. y Iyengar, R. 1995. Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexilresorcitol. *Food Technol.* 49: 110-118.

Nicolas, J. Richard-Forget, F., Goupy, P., Amiot, M.J. y Aubert, S. 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical reviews in Food Sci. and Nutrit.* 34: 109-157.

Namiki, M. y Hayashi, T. 1982. Formation of novel free radicals products at the early stage of Maillard reaction. *Prog. Food Nutr. Sci.* 5: 81-91.

O'connor-Shaw, R.E., Roberts, R., Ford, A.L. y Nottingham, S.M. 1994. Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *J. Food Sci.* 59(6): 1202-1215.

Park, W.P., Lee, D.S. y Cho, S.H. 1999. Effect of grapefruit seed extract and antibrowning agents on the keeping quality of minimally processed vegetables. *Acta Hort.* 483.

Paull, R.E. y Rohrbach, K.G. 1982. Juice characteristics and internal atmosphere of waxed "Smooth Cayenne" pineapple fruits. *J. Amer. Soc. for Hort. Sci.* 107: 448-452.

Paull, R.F. y Rohrbach, K.G. 1985. Symtom development of chilling injury in pineapple. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 110: 100-105.

Paull, R.E. y Reyes, M.E.Q. 1996. Preharvest weather conditions and pineapple fruti translucency. *Scientia Hort.* 66: 59-67.

Paull, R.E. 1993. Pineapple and papaya. In: Seymour, G., Taylor, J. y Tuckers, G. (eds) *Biochem. of Fruits Ripening*. Chapman & Hall, London, pp. 291-323.

Paull, R. 1997. Pineapple. In: *Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits*. Mitra S. K. (ed). CAB INTERNATIONAL. Chapter 5. pp. 123-143.

Paull, R.E. y Chen, W. 1997. Minimal processing of papaya (*Carica papaya* L.) and the physiology of halved fruit. *Posh. Biol. Technol.* 12(1): 93-99.

Pierpoint, W.S., Ireland, R.J. y Carpenter, J.M. 1977. Modification of proteins during the oxidation of leaf phenols: reaction of potato virus X with chlorogenoquinone. *Phytochem.* 16: 29-34.

Ponting, J.D., Jackson, R. y Watters, G. 1972. Refrigerated apple slices: preservative effects of ascorbic acid, calcium and sulfites. *J. Food Sci.* 37:434-435.

Portela, S.I., y Cantwell, M.I. 1998. Quality changes of minimally processed honeydew melons stored in air on controlled atmosphere. *Posth Biol. Technol.* 14(3):351-357.

Py, C., Lacoevilhe, J.J. y Teisson, C. 1987. *The pineapple, cultivations and uses.* G.P. Maisonneuve et Larose, Paris, France.

Qi, L., Wu, T. y Watada, A.E.1999. Quality changes of fresh-cut honeydew melons during controlled atmosphere storage. *J. Food Qual.* 22(2):513-521.

Qi, L., Watada, A.E. y Gorny, J.R. 1998. Quality changes of fresh-cut fruits in CA. 5 Fresh-cut fruits and vegetables and MAP: 116-121. Posh. Hortic. Series No. 19. CA '97. Proccedings. Seventh International Controlled Atmosphere Research Conference. Ed. Gorny, J.R.

Reddy, M.N., Keim, P.S., Heinrickson, R.L. y Kezdy, F.J. 1975. Primary structural analysis of sulfhydryl protease inhibitors from pineapple stem. *J. Biol. Chem.* Ceylon 250: 1740-1750.

Reyes, V.G. 1996. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. *Food Australia.* 48(2): 87-90.

Robards, K. Prenzler, P.D., Tucjer, G., Swatsitang, P. y Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66: 401-436.

Rocha, A.M.C.N. y Morais, M.M.B. 2001. Influence of controlled atmosphere storage on polyphenoloxidase activity in relation to colour changes of minimally processed "Jonagored" apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36: 425-432.

Romig, W.R. 1995. Selection of cultivars for lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30(1):38-40.

Rosen, J.C. y Kader, A.A. 1989. Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. *J. Food Sci.* 54(3):656-659.

Saltveit, M.E. 1997. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In: Tomas-Barberan FA, Robins RJ (eds,). Phytochemistry of Fruits and Vegetables. Claredon Press, pp. 205-220.

Sams, C.E., Coonway, S.W., Abbott, J.A., Lewis, R.J. y Ben-Shalom. 1993. Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 118: 623-627.

Samson, J.A. 1980. *Tropical Fruits*. Tropical Agriculture Series, Longman, London.

Santerre, C.R., Cash, J.N. y Vannorman, D.J. 1988. Ascorbic acid / citric acid combinations in the processing of frozen apple slices. *J. Food Sci.* 53: 1713-1717.

Sapers, G.M. 1993. Browning of foods: Control by sulfites, antioxidants, and other means. Scientific status summary. *Food Technol.* 47(10): 75-84.

Sapers, G.M. y Douglas, F.W. Jr. 1987. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *J. Food Sci.* 52: 1258-1261, 1285.

Sapers, G.M. y Ziolkowski, M.A. 1987. Comparison of erythorbic and ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *J. Food Sci.* 52(6): 1732-1733, 1747.

Sapers, G.M., Cooke, P.H., Heidel, A.E., Martin, S.T. y Miller, R.L. 1997. Structural changes related to texture of pre-peeled potatoes. *J. Food Sci.* 62(4): 797-803.

Sapers, G.M. y Miller, R.L. 1998. Browning inhibition in fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 63(2): 342-346.

Sapers, G.M. y Simmons, G.F. 1998. Hydrogen peroxide disinfections of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 52(2): 48-52.

SAS Institute. 1995. Paquete estadístico JMP. version 3.1.2. Institute Inc.

Sawamura, M., Takemoto, K. y Li, Z.E. 1991. ^{14}C studies on browning of dehydroascorbic acid in an aqueous solution. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1735-1737.

Sideres, C.P. y Krauss, B.H. 1938. Growth phenomena of pineapple fruits. *Growth.* 2: 181-196.

Singleton, V.L. y Rossi, J.A. Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American J. of Enology and Vitiviniculture.* 16: 144-158.

Singleton, V.L. y Gortner, W.A. 1965. Chemical and physical development of the pineapple fruit. II. Carbohydrate and acid constituents. *J. Food Sci.* 30: 19-23.

Siriphanick, J. y Kader, A.A. 1985. Effects of CO_2 on total phenolic, phenylalanine ammonia lyase, and plyphenol oxidase in lettuce lettuce. *J. Amer. Soc. for Hort. Sci.* 110: 249-253.

Smith, J.S., Villalobos, M.C. y Kottemann, C.M. 1986. Quantitative determinations of sugars in various food products. *J. Food Sci.* 51(5): 1373-1375.

Solomos, T. 1994. Some biological and physical principles underlying modified atmosphere packaging. In: Wiley R.C. (ed), Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables. London, UK: Chapman & Hall, Inc.

Stelzing, D.A., Akhtar, S. y Ribeiro, S. 1972. Catechol oxidase of Red Delicious apple peel. *Phytochem.* 11: 535.

Sugiyama, H. y Rutledge, K.S. 1978. Failure of *Clostridium botulinum* to grow in fresh mushrooms packaged in plastid film overwraps with holes. *J. Food Protec.* 41: 348-350.

Tano, K., Arul, J., Doyon, G. y Castaigne, F. 1999. Atmospheric composition and quality of fresh mushrooms in modified atmosphere packages as affected by storage temperature abuse. *J. Food Sci.* 64(6): 1073-1077.

Teisson, C. 1973. Development et croissance de l'inflorescence d' *Ananas comosus* (cv. Cayenne lisse). *Fruits.* 28: 433-439.

Teisson, C. y Combres, J.C. 1979. Le brunissement interne de l'ananas III. Symptomatologie. *Fruits.* 34: 315-329.

Teisson, C., Martin-Prevel, P. y Marchal, J. 1979. Le brunissement interne de l'ananas. IV. Approche biochimique du phénoméne. *Fruits.* 34: 315-339.

Thompson, A.K. Modified atmosphere packaging. In *Controlled Atmosphere Storage of Fruit and Vegetables*; Thompson, A.K., Ed.; CAB International: Wallingford, U.K., 1998; Chapter 6, pp 95-116.

Toledo, E.H., Naim, M. Zehavi, U. y Rouseff, R.L. 1999. Effects of L-cysteine and N-acetyl-L-cysteine on 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3-(2H)-furanone (furaneol), 5-(hidroxymethyl) furfural, and 5-methylfurfural formation and browning in buffers solutions containing either rhamnose or glucose and arginine. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4140-4145.

Tolbert, N.E. 1973. Activation of polyphenol oxidase of chloroplasts. *Plant Physiol.* 51: 234-244.

Uriza, A.D.E., Rebolledo M.A., Zarate, M.F., Orona, M.J.D., Reyes, M.J.J. y Mosqueda, V.R. 1994. Manual de producción de piña para Veracruz y Oaxaca: *Bajo Papaloapan.* Folleto técnico núm. 2.

Valero, E., Varon, R. y Garcia-Carmona, F. 1992. Kinetic study of the effect of metabisulfite on polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 40: 904-908.

Vámos-Vigyázo, L. 1981. Polyphenol oxidase and preoxidase in fruits and vegetables. *Crit. Reviews in Food Sci. and Nutrit.* 15: 49-127.

Van Lelyveld, L. y De Bruyn, J.A. 1977. Polyphenols, ascorbic acid and related enzyme activities associated with black heart in Cayenne pineapple fruit. *Agrochemophysica.* 9: 1-6.

Varoquax, P., Lecendre, I., Varoquax, M. y Souty, M. 1990. Changes in firmness of kiwifruit after slicing. (Perte de fermeté du fiwi aprés découpe). *Sci. Aliment.* 10: 127-139.

Varoquax, P. y Wiley, R. 1994. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: Wiley, R.C. (ed) *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables.* N.Y., USA; Chapman & may, pp. 226-268.

Vaughn, K.C. y Duke, S.O. 1984. Minireview. Funtion of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol. Plant.* 60: 106.

Wakayama, T. 1995. Polyphenol oxidase activity in Japanese apples. Differences among cultivars and prevention by heat, ascorbic acid, and reduced oxygen. In. Lee, C.Y. y Whitaker, J.R. (Eds.) *Enzymatic Browning and Its Prevention.* ACS symposium series 600. pp. 251-266.

Watada, A.E. 1997. Quality maintenance of fresh-cut fruits and vegetables. *Food Biotechnol.* 44: 116-122.

Watada, A.E., Abe, K. y Yamauchi, N. 1990. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 44(5): 116, 118, 120-122.

Watada, A.E., Ko, N.P., y Minott, D.A. 1996. factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Posth. Biol. Technol.* 9: 115-125.

Watada, A.E. y Qi, L. 1999. Quality of fresh-cut produce. *Posth. Biol. Technol.* 15(3): 201-205.

Wright, K.P. y Kader, A.A. 1997. Effect of slicing and controlled atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Posth. Biol. Technol.* 10(1): 39-48.

Watkins, C.B. 2000. Responses of horticultural commodities to high carbon dioxide as related to modified atmosphere packaging. *HortTecnol.* 10: 501-506.

Weichmann, J. 1987. Low oxygen effects. In: *Postharvest Physiology of Vegetables.* (Ed), Weichmann, J pp. 231-238. Marcel Dekker, N.Y., U.S.A.

Weller, A., Sims, C.A., Matthews, R.F., Bates, R.P. y Brecht, J.K. 1997. Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. *J. Food Sci.* 62: 256-260.

Wen, L. y Wrolstad, R.E. 2002. Phenolic composition of authentic pineapple juice. *J. Food Sci.* 67(1): 155-161.

Wells, J.M. y Uota, M. 1970. Germination and growth of five fungi in low-oxygen and high carbon dioxide atmospheres. *Phytopathology*. 60:50-53.

Whitaker, J.R. 1972. In. *Principles of Enzymology for the Food Science*. Dekker: N.Y.

Whitaker, J.R. y Lee, C.Y. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning. In: Lee, C.Y.; Whitaker, J.R. (eds) *Enzymatic browning and its prevention*. Washington, DC, USA; ACS Symposium Series 600, pp. 2-7.

Wiley, R.C. 1994. *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. London, UK: Chapman & Hall.

Yahia, E. 1998. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. *Horticult. Rev.* 22: 123-183.

Yoldi, M., Sánchez, R.J.R., Ochoa, B.R., Rodríguez, C.F., Roque, Z.J., Ortega, C.R., Palacios, F.H. y Carrillo, T.L.A. Claridades agropecuarias. *La piña, un sabor reconocido en el mundo*. Ed. Abriendo Surcos. Revista mensual. Octubre, 2000. México, D.F.

Zagory, D., Kerbel, E.L. y Kader, A.A. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. CRC Rev. *Food Sci. Nutr.* 28(1): 1-30.

Zhang, D., Quantick, P.C., Grigor, J.M., Wiktorowicz, R. y Irven, J. 2000. Biochemical changes in iceberg lettuce (*Lactuca sativa*) during postharvest storage at 4°C. *Food Sci. Technol. Today*. 14(4): 209-212.