



Descontaminación y conservación de la judía verde *Helda Dona* mínimamente procesada



Trabajo Fin de Máster

Jorge Rodríguez Navarro

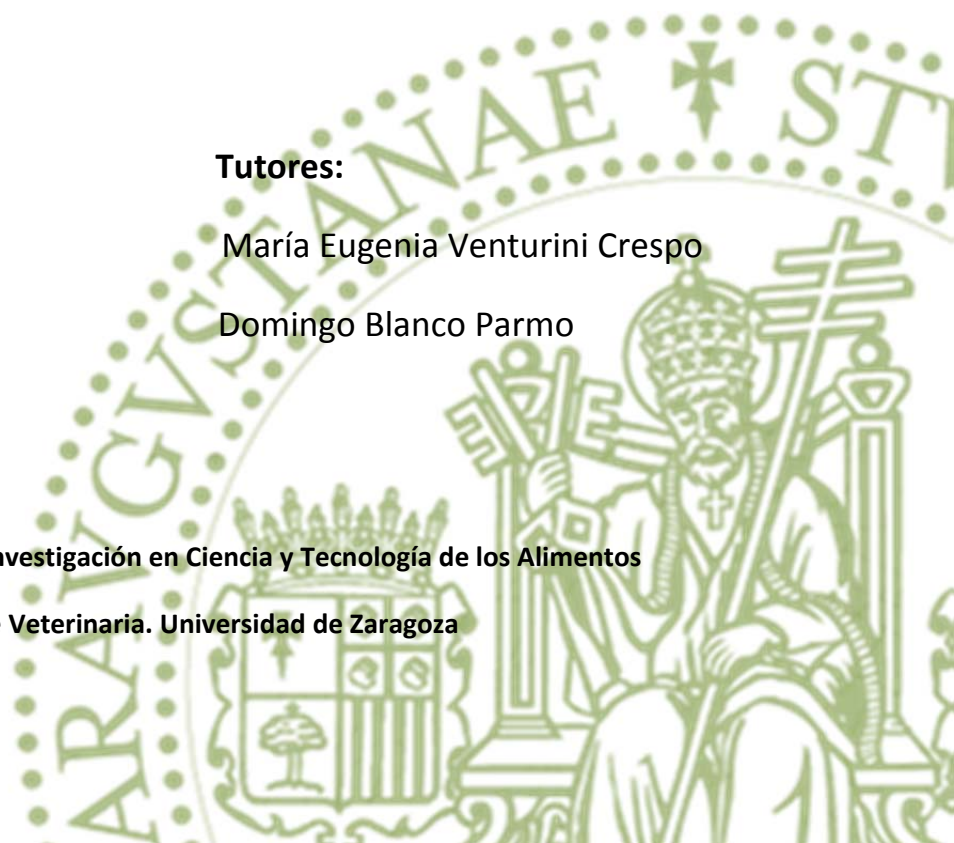
Tutores:

María Eugenia Venturini Crespo

Domingo Blanco Parmo

Máster en Iniciación a la Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza



ÍNDICE

0. RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. LA JUDÍA VERDE: PARÁMETROS DE PRODUCCIÓN Y AGRONÓMICOS.....	2
1.1.1. ORIGEN.....	2
1.1.2. TAXONOMÍA.....	2
1.1.3. CULTIVO Y VARIEDADES.....	3
1.1.4. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	4
1.2. LOS PRODUCTOS DE IV GAMA.....	5
1.2.1. DEFINICIÓN.....	5
1.2.2. PAMORAMA ACTUAL.....	6
1.3. PRINCIPALES ALTERACIONES DE LAS HORTALIZAS EN IV GAMA.....	8
1.3.1. ALTERACIONES DEL COLOR.....	8
1.3.1.1. PÉRDIDA DEL COLOR CARACTERÍSTICO: DEGRADACIÓN DE LA CLOROFILA.....	8
1.3.1.2. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO.....	10
1.3.2. PÉRDIDA DE FIRMEZA Y DESHIDRATACIÓN.....	10
1.3.3. CRECIMIENTO MICROBIANO.....	11
1.3.3.1. FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA.....	11
1.3.3.2. MICROORGANISMOS ALTERANTES Y PATÓGENOS EN LOS PRODUCTOS DE IV GAMA: MEDIDAD DE CONTROL Y LEGISLACIÓN.....	11
1.3.4. ALTERACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y NUTRICIONALES.....	13
1.4. ENVASADE DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA.....	13
1.4.1. ACTIVIDAD RESPIRATORIA.....	14
1.5. DESINFECCIÓN DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA.....	15
1.5.1. HIPOCLORITO SÓDICO.....	15
1.5.2. RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.....	16
1.5.3. IONIZACIÓN CATALÍTICA RADIANTE (RCI).....	17
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
3.1. SELECCIÓN DE LA VARIEDAD.....	20
3.2. PROCESADO DE LA JUDÍA VERDE.....	20
3.2.1. DESPUNTADO Y CORTADO.....	21
3.2.2. TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN.....	22
3.2.2.1. TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO SÓDICO.....	22
3.2.2.2. TRATAMIENTO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA-C.....	23
3.2.2.3. TRATAMIENTO EN CÁMARA EQUIPADA CON EL EQUIPO DE IONIZACIÓN CATALÍTICA RADIANTE.....	23
3.3. ENVASADO Y CONSERVACIÓN.....	24
3.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	25
3.4.1. TOMA DE MUESTRAS Y DILUCIÓN INICIAL.....	27
3.4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	27
3.4.2.1. RECUENTO DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	28
3.4.2.2. RECUENTO DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....	28

3.5. MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN GASEOSA EN EL INTERIOR DE LOS ENVASES MICROPERFORADOS.....	29
3.6. ANÁLISIS SENSORIAL.....	30
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. EVOLUCIÓN DE LA COMPOSICIÓN GASEOSA EN EL INTERIOR DE LOS ENVASES MICROPERFORADOS.....	31
4.2. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DESCONTAMINANTES Y EVOLUCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	32
4.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN MICROBIANA INICIAL DE LA JUDÍA VERDE MÍNIMAMENTE PROCESADA.....	33
4.2.2. AEROBIOS MESÓFILOS TOALES.....	33
4.2.3. FAMILIA <i>ENTEROBACTERIACEAE</i>	35
4.2.4. <i>PSEUDOMONAS SPP</i>	36
4.2.5. MOHOS Y LEVADURAS.....	38
4.3. ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS.....	39
4.4. ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO DESCONTAMINANTE, DEL SISTEMA DE ENVASADO Y ESTABLECIMIENTO DE LA VIDA ÚTIL EN FUNCIÓN DE LOS RECuentOS MICROBIOLÓGICOS.....	40
4.4.1. VIDA ÚTIL MÁXIMA.....	40
4.4.2. SISTEMA DE ENVASADO: MACROPERFORADO O MICROPERFORADO.....	40
4.4.3. TRATAMIENTO DE DESCONTAMINACIÓN.....	40
4.5. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LAS JUDÍAS VERDES.....	41
5. CONCLUSIONES.....	44
6. ANEXO.....	45
7. BIBLIOGRAFÍA.....	49

0. RESUMEN

La judía verde es una de las hortalizas más consumidas en España. Su comercialización como producto de IV Gama facilitaría su venta y su uso en el hogar. Uno de las etapas cruciales en la fabricación de estos productos es su descontaminación. Por ello el objetivo de este trabajo fue determinar la eficacia descontaminante en judía verde *Helda Dona* en IV Gama de diversos procedimientos, uno químico como es el hipoclorito sódico (200 ppm) aplicado 5 minutos, y dos físicos como son la aplicación de radiación UV-C, 0,9 y 3,6 kJ/m², y de Ionización Catalítica Radiante (RCI). Para determinar el tratamiento más eficaz se evaluó la población microbiana (aerobios mesófilos totales, F^a *Enterobacteriaceae*, G^o *Pseudomonas* y Mohos y Levaduras), antes y después de la aplicación de los tratamientos descontaminantes, y se analizó su evolución durante la conservación a 4 °C tanto en judías envasadas en películas plásticas microperforadas como macroperforadas. Por último, se estableció la calidad organoléptica del producto en cada punto de control para, con todos estos datos, determinar la vida útil durante la cual las judías mantienen su máxima calidad.

Tras el análisis de los resultados se concluye que el tratamiento más efectivo fue la aplicación de radiación UV-C a una dosis de 3,6 kJ/m² seguido de un envasado en una película plástica microperforada, con una permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono de 4366 ml/día y 2833 ml/día, respectivamente, y su conservación a 4 °C. Este procedimiento garantiza que durante 10 días las judías verdes *Helda Dona* mínimamente procesadas mantengan una excelente calidad.

1. INTRODUCCIÓN

La judía verde (*Phaseolus vulgaris*) es una de las especies vegetales más importantes en alimentación humana. Tiene dos formas de presentación: forma inmadura, donde se aprovecha vaina y grano (con un bajo aporte calórico); o como legumbre, dejándose secar la vaina madura en la planta o en secaderos y donde solo será útil el grano. Su fácil cultivo, tanto en invernadero como al aire libre hace que se pueda consumir en fresco durante todo el año.

1.1. LA JUDÍA VERDE: PARÁMETROS DE PRODUCCIÓN Y AGRONÓMICOS.

1.1.1. ORIGEN

El origen de esta hortaliza es incierto ya que existen dos teorías que sitúan su origen en América Central o en Asia. Sin embargo, la hipótesis más extendida habla de América como el primer lugar donde se cultivó y consumió. No obstante, existen ciertos estudios que afirman que pudo ser introducida a través del Estrecho de Bering a América, durante las glaciaciones de Würm, cuando las grandes capas de hielo unían ambos continentes. Según muestras encontradas en distintos yacimientos arqueológicos, se cree que las judías verdes comenzaron a cultivarse en torno al año 5000 a. C. Además, fueron uno de los primeros alimentos que encontraron los españoles durante la colonización de América en el siglo XVI. Así se introdujo la judía verde en España y en toda Europa, aunque su consumo no se popularizó hasta el siglo XIX. Sin embargo, hoy en día es una de las hortalizas más apreciadas y consumidas a nivel mundial.

1.1.2. TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA

En la siguiente tabla se muestra la clasificación taxonómica de la judía verde (Linnaeus, C., 1753).

Tabla 1. Taxonomía de la judía verde.

Reino	Plantae	Género	<i>Phaseolus</i>
División	Magnoliophyta	Sección	<i>P. sect. Phaseolus</i>
Clase	Magnoliopsida	Especie	<i>P. vulgaris</i>
Subclase	Rosidae	Nombre binomial	<i>Phaseolusvulgaris</i> L.
Orden	Fabales		
Familia	Fabaceae		
Subfamilia	Faboideae		
Tribu	Phaseoleae		
Subtribu	Phaseolinae		

La planta de judía verde es anual de vegetación rápida. Su sistema radicular es muy ligero y poco profundo y está constituido por una raíz principal y un gran número de raíces secundarias muy ramificadas.

El tallo principal es herbáceo. En variedades de porte bajo suele alcanzar una altura de 30 a 40 centímetros, mientras que en las de porte trepador puede alcanzar los 2 ó 3 metros, siendo flexible y dextrógiro (se enrolla alrededor de un soporte o tutor en sentido contrario a las agujas del reloj) (Fotografía 1).

Posee una hoja compuesta trifoliada. El foliolo central suele ser romboidal y más grande que los laterales que presentan una forma más ovalada. El tamaño es variable según la variedad.

La flor suele ser de color blanco, aunque varía según las variedades. Se presentan en racimos de 4 a 8 unidades, cuyos pedúnculos nacen en las axilas de las hojas o en las partes terminales de algunos tallos.

El fruto es una vaina de color, forma y dimensiones variables, en cuyo interior se disponen de 4 a 6 semillas. Existen frutos de color verde, amarillo, marrón, rojo, etc., aunque los más demandados por los consumidores son los verdes, con forma tanto cilíndrica como aplanada. En estados avanzados, las paredes de la vaina se desecan y se fibrosan.

1.1.3. CULTIVO Y VARIEDADES

La judía verde es una hortaliza que crece fácilmente en climas suaves y húmedos. Los mayores índices de producción se dan en climas templados, ya que las heladas perjudican seriamente a la planta y las temperaturas superiores a 30 °C provocan deformaciones en la vaina haciéndola comercialmente inviable. Es una planta muy adaptable al terreno de cultivo, aunque se desarrolla mejor en suelos ligeros, de textura silíceo-limosa, con un buen drenaje y ricos en materia orgánica. Sin embargo, es una planta muy poco tolerante a niveles elevados de salinidad tanto del suelo como del agua de riego.

Existen más de cien variedades de judías verdes que, por el tipo de planta o por el tipo de vaina, pueden clasificarse en:

- Por el tipo de planta: de porte bajo y de porte trepador.

Fotografía 1. Subespecies de judía verde en función del tipo de planta: de porte bajo (izquierda) y de porte trepador (derecha).



- Por el tipo de vaina: plana (variedades *Helda Dona*, *Perona*, *Estefanía*, *Garrafal*, *Buenos Aires...*) o redonda (variedades *Strike*, *Bobby*, *Parker*, *Emilia...*).

Fotografía 2. Subespecies de judía verde en función del tipo de vaina: plana (izquierda) o redonda (derecha).



También pueden clasificarse según el color de la vaina. Judías como la Judía Azul, la Mantequera y Borlotto tienen vainas de color amarillento y las judías tipo Marbel con vainas verde jaspeada de color violeta.

1.1.4. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La judía verde, como ya se ha comentado anteriormente, es un alimento con un bajo aporte calórico ya que contiene menos de 30 calorías por cada 100 gramos. Éste contenido calórico se debe a la presencia de hidratos de carbono como el almidón, que se encuentra concentrado en sus semillas y granos, y a la presencia de una pequeña

cantidad de proteínas (tabla 2). Son una buena fuente de fibra, aunque su contenido es menor que en muchos otros vegetales.

Tabla 2. Valor nutricional de la judía verde (por 100 g)

Agua	90 g
Hidratos de carbono	4,2 g
Fibra	2,4 g
Proteínas	1,9 g
Lípidos	0,5 g

Entre sus minerales destaca su alto contenido en calcio, potasio y fósforo (tabla 3).

Tabla 3. Minerales presentes por 100 gramos de judía verde (Sánchez-Mata et al., 2002)

Potasio	158 mg
Calcio	44,4 mg
Fósforo	44 mg
Magnesio	19,2 mg
Hierro	0,62 mg
Sodio	0,45 mg
Zinc	0,25 mg
Manganeso	0,15 mg
Cobre	0,09 mg

En cuanto al contenido en vitaminas, son una buena fuente de β -caroteno, vitamina B, vitamina C y folatos.

Tabla 4. Vitaminas y otros micronutrientes presentes en 100 gramos de judía verde

Vitamina B1 (tiamina)	0,065 μ g
Vitamina B2 (riboflavina)	0,103 μ g
Vitamina B6 (piridoxina)	0,193 μ g
Vitamina C	6,19 μ g
Carotenoides	0,773 μ g
Folatos	45 μ g

1.2. LOS PRODUCTOS DE CUARTA GAMA

1.2.1. DEFINICIÓN

La forma tradicional de consumo de los vegetales se ha ido modificando con el desarrollo de distintas tecnologías de procesado y conservación. Así, se han

establecido diversas categorías que clasifican a los alimentos de origen vegetal en 5 gamas:

Tabla 5. Las 5 Gamas en los productos vegetales

I Gama	Productos frescos
II Gama	Productos esterilizados (conservas)
III Gama	Productos congelados
IV Gama	Productos limpios, troceados y envasados listos para consumir
V Gama	Productos pasteurizados (platos preparados)

La producción de frutas y verduras mínimamente procesadas o IV gama comenzó en los años 80 en USA para satisfacer la demanda de las empresas de servicio de comida a domicilio y de comida rápida. Desde entonces este tipo de productos ha recibido diferentes nombres, según los países o el modo de preparación de las mismas. En países de influencia francesa se les denomina de cuarta gama (IV Gama, “4émeGama”). En los de influencia anglosajona son mínimamente procesados (“minimally processed”, “lightly processed” o “slightly processed”), parcialmente procesados (“partially processed”), listos para el consumo (“ready to eat”, “ready to use” o “pre-prepared”), así como frescos cortados o recién cortados (“fresh-processed” o “freshcut”).

Estos productos están listos para el consumo en fresco y mantienen características muy similares al producto original después de su procesado. Generalmente han sufrido solo tratamientos físicos simples, y para su conservación y distribución se someten únicamente a refrigeración.

1.2.2. PANORAMA ACTUAL

Actualmente, el sector de la IV Gama es considerado por los expertos como una de las áreas con mayor perspectiva de crecimiento, dado que estos productos están en sintonía con diversas tendencias: envejecimiento medio de la población, disminución de componentes del núcleo familiar, mayor ocupación de la mujer y demanda de alimentos de consumo fácil y rápido. Sin embargo, el factor determinante de las nuevas tendencias del consumo es el creciente interés por alimentos sanos, seguros y libres de aditivos, es decir, productos frescos o con características similares a los frescos. Un producto de IV Gama requiere un tiempo mínimo de preparación y posee prácticamente las mismas características nutricionales del producto original. Es por ello que existe una demanda creciente de este tipo de productos.

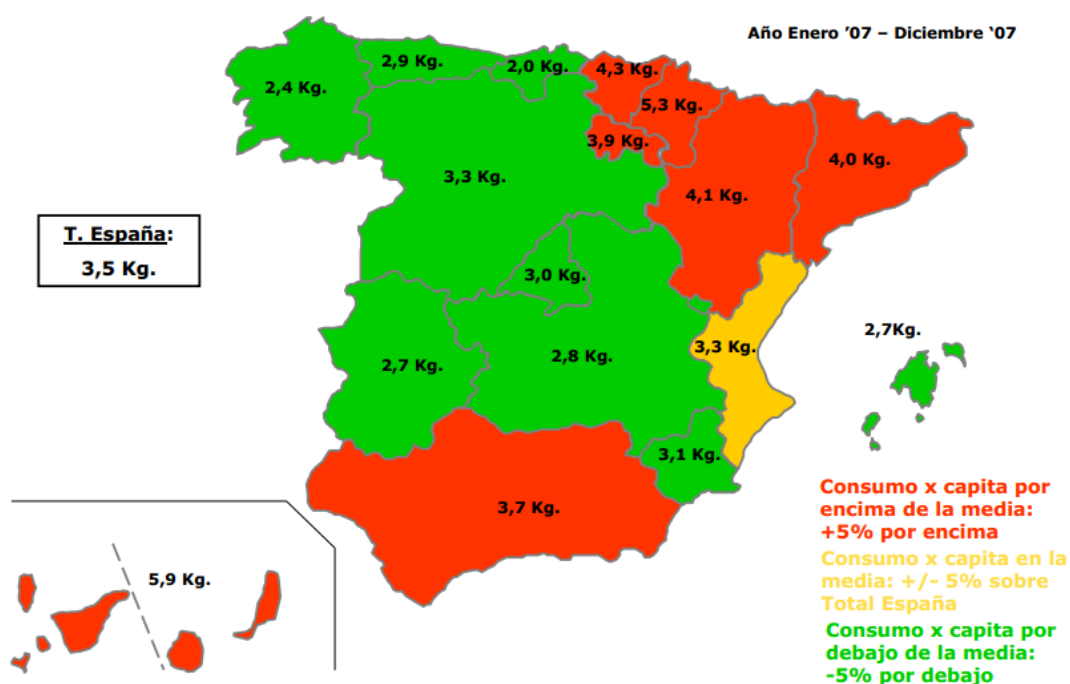
En España los productos de IV Gama se introdujeron en los años 90, concretamente en Navarra donde se instaló la fábrica de procesado Vega Mayor. Desde entonces la IV Gama ha ido teniendo más importancia en nuestro país, debido a

los cambios socioculturales y al poco tiempo dedicado a la cocina, que hacen que estos productos sean cada vez más demandados por su comodidad, ahorro de tiempo y una presentación saludable.

La difusión de IV Gama en el mercado francés e inglés ha sido más veloz que en España, quizás debido a las diferentes culturas alimenticias.

Según datos ofrecidos por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino referentes al consumo de verduras y hortalizas frescas en hogares españoles en el año 2007, se observa que el consumo medio de productos de IV Gama es de 3,5 Kg/año, llegando a los 4,1 Kg/año en Aragón (Figura 1).

Figura 1. Consumo de verduras y hortalizas frescas en hogares españoles en el año 2007 (productos de IV Gama)



Desde la Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas, Listas para su Empleo (Afhorla), indican que el consumo de estos productos sigue una línea ascendente. Por ejemplo, citar que en el período que va de Enero a Abril de 2010 aumentaron las ventas de producto de IV Gama un 8,6% respecto al mismo período del año anterior. Esto confirma las perspectivas de expansión del sector de productos mínimamente procesados.

1.3. PRINCIPALES ALTERACIONES DE LAS HORTALIZAS EN IV GAMA

El fin de los productos de IV Gama es proporcionar al consumidor un producto de calidad semejante a la del producto en estado fresco, que su consumo sea fácil y al mismo tiempo garantizar la inocuidad de los mismos, manteniendo una alta calidad nutritiva y sensorial.

La calidad final del producto procesado dependerá en gran medida de la calidad del producto entero, del método de preparación, de las condiciones posteriores de manipulación y de las posibilidades de mantenimiento de esa calidad hasta el momento de consumo. Las operaciones de procesamiento necesarias para la obtención de los productos de IV Gama producen un gran impacto físico en el producto. Esto hace que se produzca un aumento de la actividad respiratoria respecto a la del producto entero, lo que reduce su vida útil.

El procesamiento también induce la biosíntesis de enzimas asociados con cambios de color, pardeamiento enzimático, alteraciones en la textura, generación de sabores anómalos y modificación del producto (Cantwell y Suslow, 2002). Éstas, junto al desarrollo microbiológico, serán las principales causas que ocasionarán el deterioro y limitarán la vida útil del producto.

1.3.1. ALTERACIÓN DEL COLOR

Los consumidores de productos frescos compran en función de la apariencia y de la calidad textural, y repiten la compra en función del flavor (Mondino y Ferrato, 2006). Es por ello que el color va a ser uno de los aspectos determinantes para la aceptación del producto por parte de los consumidores, ya que es considerado un indicador de frescura en los vegetales.

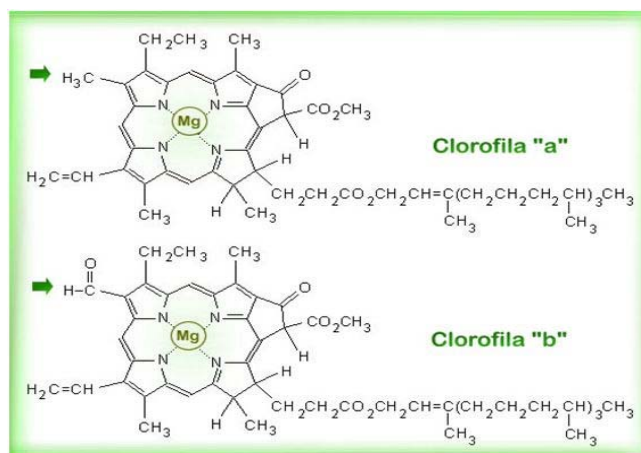
Cualquier deterioro o variación del color (pardeamiento enzimático, degradación del color, etc.) propio del vegetal se asociará a una mala conservación o a una alteración del mismo (Sáenz et al., 1993; Ávila y Silva, 1999).

1.3.1.1. PÉRDIDA DEL COLOR CARACTERÍSTICO: DEGRADACIÓN DE LA CLOROFILA.

La clorofila (figura 2) es el pigmento principal en los vegetales y es el responsable del color verde, por lo que cualquier variación de la clorofila provocará cambios en el color del producto (Schwartz y von Elbe, 1983). Existen dos tipos principales de clorofila, la clorofila a y la clorofila b. La diferencia entre ellas es que la clorofila b tiene un grupo formilo (-CHO) en lugar de un grupo metilo de la clorofila en

uno de los carbonos del anillo de porfirina. En los vegetales superiores, la más abundante es la clorofila a.

Figura 2. Estructura química de la clorofila.



En la figura 3 se representan los distintos mecanismos de degradación de la clorofila. Estos procesos afectan tanto al fitol (alcohol de cadena larga) como a la base porfirínica (anillo con una molécula de magnesio central). La clorofila puede sufrir distintos tipos de alteraciones. La más frecuente, y la más perjudicial para el color de los alimentos vegetales que la contienen, es la pérdida del átomo de magnesio, formando la llamada feofitina, de un color verde oliva con tonos marrones, en lugar del verde brillante de la clorofila. Esta pérdida del magnesio se produce por sustitución por dos iones H⁺, y consecuentemente se ve favorecida por el medio ácido. La pérdida es irreversible en medio acuoso, por lo que el cambio de color de los vegetales verdes es un fenómeno habitual en procesos de cocinado, enlatado, etc. La clorofila b es algo más estable que la clorofila a.

Figura 3. Degradación de la clorofila.

1.3.1.2. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

Además de la degradación de la clorofila, el color de los vegetales puede modificarse debido a la reacción de pardeamiento enzimático. Como ya se ha dicho anteriormente, el color va a ser determinante para la aceptación y compra del producto por lo que cualquier alteración del color influirá negativamente.

Diversos estudios han demostrado que la alteración del color de los productos hortifrutícolas está fundamentalmente relacionada con el pardeamiento enzimático (Sapers, 1993; Nicolas et al., 1994). Las reacciones enzimáticas en vegetales mínimamente procesados también pueden producir alteraciones sensoriales tales como mal olor, pérdida de firmeza y decoloración.

La reacción de pardeamiento enzimático se desencadena tras una pérdida de la integridad celular en las superficies de corte del producto. De esta forma la polifenoloxidasas (PPO) entra en contacto con su sustrato, los compuestos fenólicos. Para que la reacción tenga lugar se requiera la presencia de cuatro compuestos: O_2 , sustratos apropiados, la PPO y el cobre en el centro activo de la enzima (Laurila, 1998).

Estos factores determinan la velocidad de pardeamiento, que puede tener lugar muy rápidamente, incluso en treinta minutos (Laurila, 1998). Esta velocidad dependerá de factores tales como la concentración y actividad de la enzima, la cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, el pH, la temperatura, la actividad de agua y la cantidad de O_2 disponible en el entorno del tejido vegetal (Mayer y Harel, 1987; Vámos-Vigyázó, 1981). Otros factores intrínsecos que influyen en la intensidad del pardeamiento son la especie, la variedad y el estado fisiológico del producto a procesar (Amiot, 1992).

Entre las medidas de control para la prevención del pardeamiento enzimático, las más utilizadas son el control de la temperatura, el envasado en atmósfera modificada y la aplicación de diferentes tratamientos antioxidantes.

1.3.2. PÉRDIDA DE FIRMEZA Y DESHIDRATACIÓN

La pérdida de firmeza de los productos vegetales se debe a cambios en las paredes celulares del tejido. Dichas paredes están compuestas por celulosa, hemicelulosa y pectinas que forman una estructura compleja. La degradación enzimática de los componentes de la pared por celulasas, hemicelulasas y, sobre todo, por enzimas pécticas es la principal razón de la pérdida de firmeza.

La degradación de la textura en los vegetales de IV Gama durante los primeros días tras el procesado, se podría relacionar con la hidrólisis de algunos componentes celulares por parte de los enzimas liberados durante las operaciones de cortado y

pelado. Los daños producidos por el corte favorecen la descompartimentalización celular, de manera que se ve favorecida la difusión de enzimas hacia el interior de los tejidos. Además en la operación de despuntado y cortado aumenta la superficie de contacto del producto con el medio y, por tanto, se incrementa la pérdida de agua.

1.3.3. CRECIMIENTO MICROBIANO

Las etapas de procesado requeridas para la preparación de los vegetales de IV Gama, tienen como consecuencia la contaminación del producto con diferentes microorganismos, algunos de los cuales pueden ser potencialmente peligrosos para la salud humana (Food and Drug Administration (FDA), 2001). Tal y como refleja la FDA, con las operaciones de despuntado y cortado se rompen las paredes celulares y se dañan las células, liberando agua y nutrientes celulares al exterior, lo que favorece el desarrollo de microorganismos.

El tipo y número de microorganismos dependerá de las características particulares del producto, de las prácticas de cultivo, de su manipulación y procesado y de la temperatura de conservación del producto (De Roever, 1998).

1.3.3.1. FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA

La contaminación inicial de un producto vegetal de IV Gama puede provenir de distintas fuentes de contaminación como pueden ser el suelo, el abonado, el agua de riego o las prácticas agrícolas. Tras su recolección y durante su procesado, las principales fuentes de contaminación serán los manipuladores y los utensilios y maquinaria utilizados en el proceso.

1.3.3.2. MICROORGANISMOS ALTERANTES Y PATÓGENOS EN LOS PRODUCTOS DE IV GAMA: MEDIDAS DE CONTROL Y LEGISLACIÓN

Las frutas y verduras frescas cortadas son más perecederas que sus correspondientes íntegras debido a las heridas causadas durante su preparación que suele incluir el pelado y cortado. La consecuencia de estas prácticas es la disponibilidad de más superficie vegetal para que los microorganismos puedan adherirse a ella y colonizarla. Las superficies cortadas liberan cantidades significativas de líquido que contiene nutrientes que serán utilizados inmediatamente por los microorganismos adheridos. Además, este tejido vegetal dañado y la pérdida de líquidos interfieren con la acción desinfectante de los pasos iniciales del lavado.

En general se recomienda o permite una población microbiana máxima de 5 u.log/g en la fase de producción y de 7 u.log/g en la fecha de consumo preferente en los productos frescos cortados en Europa (Nguyen-the y Carlin, 1994). Las principales bacterias presentes en estos productos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y a los géneros *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Lactobacillus* (Casp y Abril, 1999).

La seguridad microbiológica de estos alimentos es uno de los retos de la industria alimentaria procesadora de estos productos. Dado que su consumo ha aumentado en los últimos años paralelamente también lo ha hecho el número de brotes de tox infecciones alimentarias asociadas. Son muchos los agentes etiológicos específicos que están relacionados con estos brotes. Se han encontrado bacterias (*Salmonella* y *Shigella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* y *Yersinia enterocolitica*), virus (calicivirus, virus de la hepatitis A y norovirus), parásitos (*Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*) (Beuchat, 2002; Sewell y Farber, 2001; Sivapalasingam et al. 2004). También cabe destacar, por su presencia en suelos y peligrosidad, las formas esporuladas de algunas especies, como *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens*. Aproximadamente un 30% de los vegetales están contaminados por éstos microorganismos pero no presentan un riesgo para la salud de los consumidores, salvo en el caso de que las esporas sean capaces de germinar y multiplicarse a lo largo de la vida del producto (Tirilly y Bourgeois, 2002). En cuanto a los mohos y levaduras, los géneros que podemos encontrar en los vegetales, por lo general, no producen intoxicaciones alimentarias y solo las levaduras *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* son potencialmente patógenas (Casp y Abril, 1999).

Existen diferentes medidas de control para reducir la alteración microbiológica; una de ellas es el control de la temperatura, ya que su reducción juega un papel fundamental en el control final de la microflora de los vegetales de IV Gama, apuntando a una selección de los microorganismos psicrótrofos, en detrimento de los microorganismos mesófilos (Babic y Watada, 1996).

Además de la disminución de la temperatura, el empleo de atmósferas modificadas será imprescindible para evitar la alteración microbiológica del producto durante su conservación, ya que la proliferación de microorganismos aerobios puede ser retardada con el empleo de atmósferas con niveles bajos de O₂. Las bacterias aerobias Gram negativas, como las *Pseudomonas*, son especialmente sensibles bajo estas condiciones de conservación. Sin embargo, las bacterias microaerófilas Gram positivas, como el género *Lactobacillus*, serán más resistentes por la inhibición de otros grupos bacterianos (como las *Pseudomonas*) y las óptimas condiciones de crecimiento. También destacar que elevadas concentraciones de CO₂ afectarán sensiblemente al crecimiento de microorganismo aerobios Gram negativos y a mohos y levaduras (Al-Ati y Hotchkiss, 2002). El efecto antimicrobiano del CO₂ ha sido

ampliamente demostrado, y se debe principalmente a un descenso en el valor del pH del medio y a su influencia en el metabolismo celular (Brackett, R. E.,1994).

El marco legal en el cual se definían los parámetros microbiológicos que debían cumplir este tipo de alimentos se recogían en el Real Decreto 3484/2000, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. En 2010 el Real Decreto 135/2010 derogó las disposiciones relativas a los criterios microbiológicos contenidos en dicho Real Decreto siendo sustituidas por los Reglamentos (CE) 2073/2005 y 1441/2007 de la Comisión, relativos a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

1.3.4. ALTERACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y NUTRICIONALES

En general, en las numerosas investigaciones llevadas a cabo sobre los vegetales mínimamente procesados, el análisis organoléptico del producto final indica que tras diez o doce días de conservación las propiedades sensoriales características no cumplen con los requisitos de calidad exigibles para su comercialización.

Los productos procesados en fresco son envasados habitualmente en atmósferas modificadas. Cuando la atmósfera de equilibrio no es la adecuada, llegando a estados de anaerobiosis, puede producirse el desarrollo de sabores o aromas extraños, resultantes de un metabolismo fermentativo (Artés,2000). No debe confundirse la aparición de aromas o sabores extraños persistentes, con los aromas fuertes detectados justo en el momento de apertura de las bolsas, ya que estos son originados por la expansión de los aromas de los tejidos vegetales en conservación, que desaparecen rápidamente sin perjudicar su calidad.

Otros autores han evaluado la influencia de las condiciones de conservación y procesado del producto en su contenido en vitaminas y antioxidantes. En dichos estudios se han evaluado la retención de los nutrientes del fruto intacto y mínimamente procesado durante la conservación en aire (9 días a 25 °C). Las frutas elegidas fueron piña, mango, melón, sandía, fresa y kiwi. Las pérdidas de vitamina C tras 6 días de conservación fueron menores del 5% en las piezas de mango, sandía y fresa; de un 10% en las de piña; de un 12% en las láminas de kiwi; y de un 25% en las piezas de melón (Gil et al., 2006).

1.4. ENVASADO DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA

La conservación de frutas y hortalizas en atmósfera controlada y mediante envasado en atmósfera modificada vienen utilizándose desde hace muchos años. Su principal objetivo es conseguir unas condiciones óptimas que prolonguen la vida útil

del fruto y que, al mismo tiempo, mantengan unos niveles de calidad general aceptables hasta el final de su conservación.

La diferencia entre estas dos técnicas de conservación radica en que si el fruto es conservado en atmósfera controlada la composición gaseosa que se establece al inicio del almacenamiento se mantiene constante durante todo el período de conservación (la atmósfera no se modifica, independientemente de la actividad respiratoria del producto, intercambios de gases por fugas, etc.). En el caso del envasado en atmósferas modificadas se utiliza un material plástico con una permeabilidad definida al vapor de agua y a los gases. La atmósfera que se genera en el envase del producto depende de un equilibrio dinámico que se establece entre el metabolismo del fruto y la permeabilidad del plástico utilizado. Los frutos envasados consumen el O_2 presente en el aire produciendo CO_2 y vapor de agua, por lo que la atmósfera inicial, que normalmente es aire, variará con el paso del tiempo.

En la actualidad, para la conservación y distribución de los productos de IV Gama, resulta prácticamente imprescindible el envasado en atmósferas modificadas, ya que la vida útil de los mismos se prolonga de forma significativa. Los efectos positivos de este tipo de envasado son la inhibición del pardeamiento superficial, la prevención y control del crecimiento microbiano y, en general, el mantenimiento de las características físico-químicas y nutricionales del producto. Por otro lado, concentraciones de O_2 inferiores a determinados valores (críticos) o un exceso de CO_2 , pueden dar lugar a diversos tipos de alteraciones entre las que destacan el desarrollo de aromas y sabores anómalos causados por el metabolismo anaerobio (Kader et al., 1989; Gorny et al., 2002) por lo que es necesaria una buena elección del plástico de envasado.

1.4.1. ACTIVIDAD RESPIRATORIA

Tanto las frutas como las hortalizas frescas continúan respirando después de ser recolectadas, y es por ello que cualquier envasado posterior debe tener en cuenta esa actividad respiratoria.

La respiración es un fenómeno bioquímico muy complejo según el cual los hidratos de carbono, ácidos orgánicos y otras fuentes de energía son metabolizados en moléculas más simples con producción de calor. Los productos de la respiración aerobia son el CO_2 y agua, mientras que productos como etanol, acetaldehído y ácidos orgánicos se producen durante la respiración anaerobia.

La reducción en O_2 y el aumento de CO_2 son consecuencias naturales de la actividad respiratoria cuando las frutas y hortalizas frescas se envasan en una película plástica.

Hay numerosos estudios que demuestran que cuando un vegetal sufre procesos de corte y/o pelado, aumenta su tasa respiratoria (Cantwell y Suslow, 2002). Por tanto, a mayor grado de procesamiento mayor tasa respiratoria. Otros autores determinaron una mayor tasa respiratoria en rodajas respecto al producto intacto en judía verde, pepino, kiwi, plátano, melocotón, lechuga y zanahoria, almacenadas a 0, 5, 10 y 20 °C (Watada et al., 1996).

El método más utilizado para determinar la actividad respiratoria de un producto vegetal es la determinación del intercambio gaseoso, ya sea en un sistema cerrado, un sistema en flujo o mediante un sistema permeable. Generalmente los sistemas cerrados son los de primera elección. El sistema cerrado consiste en colocar el producto en el interior de recipientes herméticos y medir las concentraciones de O₂ y CO₂ a lo largo del tiempo. Debemos tener en cuenta el volumen del recipiente y el peso del producto.

1.5. DESINFECCIÓN DE LOS PRODUCTOS DE IV GAMA

Existen numerosas técnicas de desinfección para los vegetales de IV Gama. Todos ellos deben ser tratamientos que no afecten a la calidad sensorial y organoléptica del producto, ya que de ser así perdería su valor comercial, pero a su vez deben conseguir reducir la carga microbiana y con ello prolongar su vida útil. En este capítulo nos centraremos en 3 tratamientos de desinfección:

- Hipoclorito sódico
- Radiación ultravioleta.
- Ionización catalítica radiante (RCI).

1.5.1. HIPOCLORITO

El cloro es actualmente, el agente químico más utilizado como tratamiento descontaminante en la industria agroalimentaria, principalmente como hipoclorito (Koseki e Isobe, 2006). Sin embargo, el cloro líquido y los hipocloritos se caracterizan por tener un efecto desinfectante moderadamente eficaz en las superficies de productos hortofrutícolas. Para la desinfección de estos productos las concentraciones utilizadas oscilan entre 50 y 125 ppm, puesto que de esta manera los niveles no son abusivos y el cloro residual no alcanza niveles tóxicos (Izumi, 1999). El tiempo de contacto recomendado fluctúa entre 1 y 5 minutos.

El cloro o sus hipocloritos ejercen un efecto inhibitorio o letal dependiendo de la cantidad de cloro libre disponible en la solución, en forma de ácido hipocloroso (HClO), que entra en contacto con las células microbianas. La disociación del ácido

hipocloroso depende del pH: conforme éste disminuye más HClO se libera. Sin embargo, los recipientes metálicos y los equipos de procesado, suelen ser sensibles a la corrosión a bajos pHs; un pH de 6,0-7,5 es el más adecuado para conseguir una desinfección óptima sin dañar la superficie de los equipamientos.

Aunque la mayor concentración de ácido hipocloroso se produce a pH 4,5 y 5,5, la mejor solución en cuanto a estabilidad y actividad se obtiene manteniendo el pH del agua entre 6,5 y 7,5. A pHs por debajo de 4 se forma cloro gas que se escapa de la disolución. A un pH dado, la liberación de ácido hipocloroso es mayor conforme la temperatura disminuye, ya que conforme ésta aumenta el cloro se evapora. El cloro pierde actividad rápidamente en contacto con la materia orgánica, con el aire, la luz o en presencia de metales.

La máxima solubilidad del cloro en agua se obtiene a temperaturas próximas a 4 °C. Sin embargo, la temperatura del agua clorada debería ser al menos 10 °C más alta que la temperatura del producto a tratar (Bartz y Showalter, 1981; Zhuang et al., 1995).

Diversos estudios sobre la actividad antimicrobiana del cloro han demostrado que ciertos componentes de los tejidos los productos hortofrutícolas neutralizan el cloro disminuyendo su eficacia, siendo también limitada su efectividad por la inaccesibilidad a las células microbianas que se localizan en huecos, fisuras, grietas, pliegues y aberturas naturales en la superficie del producto. Además, Choi y Sapers (1994) señalan que el empleo de hipoclorito, a concentraciones tan bajas como 50 mg/l, puede causar pardeamiento en champiñones.

De los estudios publicados también se puede deducir que la eficacia bactericida de las soluciones cloradas es muy marcada en los primeros momentos del tratamiento, disminuyendo rápidamente después (Bracket, 1987).

Otro aspecto a considerar en el momento de establecer la dosis de cloración, son las implicaciones sanitarias de los compuestos clorados formados (trihalometanos) entre los que se encuentran el cloroformo y el diclorobromometano, potencialmente tóxico o cancerígeno tanto en agua como en alimentos o superficies en contacto con los alimentos (Richardson et al., 2000).

1.5.2. RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

La radiación ultravioleta (UV) es el principal agente responsable de la acción bactericida de la luz solar, siendo la longitud de onda de mayor poder germicida la de 254 nm. La acción letal depende del tiempo de exposición y de la intensidad de la luz. Si bien otros factores afectan a la eficacia como la temperatura, el pH y el número de microorganismos por área de exposición.

Actualmente los rayos UV se aplican en la industria alimentaria para la potabilización del agua en plantas depuradoras de moluscos, la maduración de quesos, la prevención de crecimiento fúngico en la superficie de productos de panadería, la purificación del aire en plantas embotelladoras y en establecimientos de procesado y manipulación de alimentos y en las cubas de encurtidos.

El tratamiento con rayos UV ofrece muchas ventajas en el procesado de los alimentos por no dejar residuos, no tener restricciones legales, es sencillo de aplicar y es letal para numerosos géneros de microorganismos (Bintsis, 2000).

El mecanismo de acción de los rayos UV no está claro, pero parece ser un efecto letal indirecto debido a la generación de peróxido de hidrógeno o a la producción de distintos cambios bioquímicos y fisicoquímicos en los componentes celulares. La luz UV de longitudes de onda entre 200-290 nm penetra a través de las membranas plasmáticas y daña el DNA evitando la replicación celular. Asimismo el efecto germicida puede deberse a la degradación de las paredes celulares.

En frutas y hortalizas se ha señalado un concepto relativamente reciente de hormesis de la luz ultravioleta (UV-C, 254 nm) como el responsable de la inducción de resistencia frente a las podredumbres post-cosecha y de la prolongación de la vida útil por retraso del proceso madurativo. Luckey (1980) definió la hormesis, como la estimulación de una respuesta beneficiosa en las plantas por la aplicación de dosis bajas de un agente químico o un estrés físico. En frutas cítricas por ejemplo, la aplicaciones de radiaciones UV inducen el desarrollo de mecanismos de resistencia ante el patógeno *Penicillium digitatum* (Sánchez-Torres, 2010). También se ha demostrado que dosis bajas de radiación UV inducen la resistencia ante los patógenos en productos como la zanahoria (Mercieret al., 1994) y ante *Botrytis cinerea* en el pimiento, con una dosis de 0,88 kJ/m² (Mercier, 2001).

1.5.3. IONIZACIÓN CATALÍTICA RADIANTE (RCI)

La ionización catalítica radiante, se incluye dentro de las nuevas nanotecnologías. Se trata de un proceso de fotocátalisis heterogénea gaseosa, el cual se basa en la absorción de luz ultravioleta, por parte de un sólido semiconductor (catalizador), el cual se activa con la humedad ambiental. Se generan entonces especies activas muy oxidantes (radicales libres e iones) como superóxidos, hidroxilos, hidroperóxidos e iones ozónidos. Este proceso se desarrolla en una célula compuesta por una lámpara de UVX de alta densidad, alojada en el interior de un catalizador, compuesto por una aleación específica de metales nobles. Estas sustancias son liberadas a la atmósfera de la cámara donde interaccionan con los compuestos químicos y con las células microbianas provocando su degradación o destrucción.

La ionización de los alimentos es un método de conservación que busca alargar la vida media del producto y aumentar las cualidades higiénico-sanitarias del alimento. Los tratamientos con RCI no alteran las propiedades organolépticas de los alimentos. Una de las ventajas de la ionización catalítica radiante es la sustitución de los tratamientos químicos y físicos tradicionales. Se ha demostrado que es eficaz en la eliminación de mohos y sus esporas y en el caso de que el producto ya se encuentre contaminado al introducirlo en una cámara equipada con RCI, se ralentiza su desarrollo y crecimiento. También retrasa el proceso de maduración ya que elimina compuestos orgánicos volátiles como el etileno, responsable de la maduración y senescencia de frutas, verduras y hortalizas.

Debe ser aplicada en las cámaras de conservación donde purifica el ambiente interior impidiendo el desarrollo de microorganismos tanto en el aire como en las superficies.

2. OBJETIVOS

El objetivo global de este trabajo ha sido determinar la eficacia descontaminante en judía verde *Helda Dona* en IV Gama de diversos procedimientos, uno químico como es el hipoclorito sódico y dos físicos como son la aplicación de radiación UV-C y de Ionización Catalítica Radiante (RCI).

Para determinar cuál de ellos se adecuaba más al procesado de este producto:

- a. Se evaluó la población microbiana (Aerobios mesófilos totales, F^a *Enterobacteriaceae*, G^o *Pseudomonas* y Mohos y Levaduras) de las judías antes y después de la aplicación de los tratamientos descontaminantes.
- b. Se analizó la evolución de estas poblaciones durante la conservación a 4 °C tanto en judías envasadas en películas plásticas microperforadas como macroperforadas.
- c. Se estableció la calidad organoléptica de las judías en cada punto de control.

Estos datos nos permitirán establecer el periodo de vida útil durante el cual las judías verdes *Helda Dona* en IV gama mantienen su máxima calidad, tanto microbiológica como sensorial.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. SELECCIÓN DE LA VARIEDAD

Antes de elaborar un producto de IV Gama es importante determinar qué variedad es la más adecuada para conseguir un producto final de gran calidad. Estudios anteriores realizados en el laboratorio del Grupo de Investigación de Alimentos de Origen Vegetal de la Universidad de Zaragoza establecieron que los consumidores prefieren las variedades planas frente a las redondas.

Por ello y por su elevada producción en Aragón y su alto consumo en España la variedad elegida fue *Helda Dona*. Como se puede observar en la fotografía es una variedad plana y de color verde.



Fotografía 3. Judías *Helda Dona* a su recepción en el laboratorio

Los ensayos se llevaron a cabo durante el mes de Julio. Inmediatamente tras su llegada al laboratorio se procedió a la selección de la materia prima eliminándose las unidades dañadas bien físicamente o aquellas afectadas por podredumbres o alteraciones fisiológicas. Posteriormente se establecieron cuatro lotes, uno para cada tratamiento (lavado con hipoclorito sódico, tratamiento con rayos UV 30 y 120 segundos y tratamiento en cámara con RCI) y un control. Cada lote estaba compuesto de alrededor de 10 Kg de judía verde.

3.2. PROCESADO DE LA JUDÍA VERDE

El procesado de la judía verde para su preparación como producto de IV gama

implica las siguientes operaciones:

- Selección de la materia prima
- Despuntado y cortado
- Descontaminación
- Envasado
- Conservación en refrigeración

3.2.1. DESPUNTADO Y CORTADO

El despuntado consiste en desechar los extremos de la judía, es decir el pedúnculo y el ápice. El corte posterior de la judía verde se hará de forma que los fragmentos tengan entre 6 y 8 cm de longitud (fotografía 4). Estudios anteriores realizados en el laboratorio del Grupo de Investigación de Alimentos de Origen Vegetal de la Universidad de Zaragoza establecieron que los consumidores prefieren este tipo de corte, denominado como “tipo largo”, frente al corte “tipo corto” en el que los fragmentos de judía tienen entre 3 y 4 cm.

Para ambas operaciones se utilizó un cuchillo cerámico, cuyo filo está compuesto por dióxido de zirconio. Este compuesto le confiere al cuchillo una elevada dureza y un buen corte, por lo que los tejidos del vegetal no sufren aplastamiento, disminuyen las pérdidas de agua, disminuye el pardeamiento y reduce la posible presencia de trazas metálicas.

También se utilizó una disolución de ácido ascórbico al 1% en un vaso de precipitados, para minimizar el pardeamiento durante el corte. Para ello se sumergía el filo del cuchillo antes de realizar los cortes.



Fotografía 4. Operaciones de despuntado y cortado de la judía verde

3.2.2. TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN

A continuación las judías fueron sometidas al tratamiento de descontaminación correspondiente: desinfección con una solución de hipoclorito de sodio, tratamiento con radiación ultravioleta-C y tratamiento en cámara equipada con el equipo de ionización catalítica radiante (RCI).

3.2.2.1. TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO SÓDICO

Para aplicar la higienización con hipoclorito sódico se utilizó una lavadora de vegetales modelo SOLIA SWA 75E Compact de 70 litros de capacidad (fotografía 5) la cual se encuentra en la Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria.

El lote de 10 Kg de judía verde se dividió en 3 sub-lotes de aproximadamente unos 3 Kg. Cada lote se lavó en 70 litros de agua con 200 ppm de cloro libre.

El tiempo de lavado fue de cinco minutos y el de aclarado (con otros 70 litros de agua limpia) de tres minutos, terminando con una centrifugación de 30 segundos. Así conseguimos el producto limpio, tratado y libre de restos de materia orgánica.



Fotografía 5. Lavadora de vegetales SOLIA SWA 75E

Una vez secas las judías las envasamos en los dos tipos de película plástica, macroperforada y microperforada. Todas las muestras fueron conservadas a 4 °C.

3.2.2.2. TRATAMIENTO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA-C

Para aplicar el tratamiento utilizamos una cámara de radiación ultravioleta para cuyo diseño nos basamos en los datos suministrados por Artés et al. (2010). La cámara consta de 2 líneas de 2 lámparas de emisión ultravioleta sin filtro germicida, situadas dos en la parte superior y dos en la inferior, con las que se obtiene una radiación máxima de 30 W/m^2 . Toda. En la parte central de la cámara se dispone una rejilla donde se situaron las judías para su tratamiento. La cámara está recubierta de material reflectante para garantizar que los haces de luz no son absorbidos por la superficie de ésta (fotografía 6).

Para la aplicación del tratamiento utilizaremos judías verdes sin despuntar ni cortar que colocamos sobre la rejilla de la cámara. Las muestras permanecieron en la cámara durante 30 ó 120 segundos que corresponden a $0,9$ y a $3,6 \text{ kJ/m}^2$, respectivamente. Estas dosis de radiación están basadas en anteriores estudios realizados en el Grupo de Investigación de Alimentos de origen Vegetal de la Universidad de Zaragoza en otros productos hortofrutícolas.

Para verificar que la dosis de radiación aplicada fue la correcta simultáneamente a la aplicación del tratamiento se procedió a cuantificar dicha dosis con el fotorradiómetro modelo HD 2102.1 (Delta Ohn, Padova, Italia) (fotografía 6).

A continuación procesamos la judía verde (despuntado y cortado), la envasamos y conservamos a 4°C .



Fotografía 6. Cámara de radiación ultravioleta-C y fotorradiómetro

3.2.2.3. TRATAMIENTO EN CÁMARA EQUIPADA CON EL EQUIPO DE IONIZACIÓN CATALÍTICA RADIANTE

El mismo día de la recepción, apartamos un lote de judía verde de unos 10 Kg

sin procesar y los introducimos en una cámara frigorífica de 6 m³ de capacidad equipada con el equipo de ionización catalítica radiante modelo Induct 500 (activTek Environmental) distribuido en España por North Ward Group (Barcelona) (fotografía 7). Dicho equipo está recomendado para la higienización de ambientes y superficies de un volumen de hasta 25 m³.

Las judías fueron sometidas al tratamiento durante 48 horas a 4 °C. Tras este tiempo procesamos, despuntamos y cortamos, la judía verde, la envasamos y conservamos a 4 °C.



Fotografía 7. Equipo de Ionización catalítica radiante modelo Induct 500 dispuesto en la cámara de refrigeración, apagado (izquierda) y en funcionamiento (derecha)

3.3. ENVASADO Y CONSERVACIÓN

Como hemos indicado anteriormente tras aplicar los tratamientos de descontaminación las judías se envasaron en dos tipos de bolsas plásticas: macroperforadas y microperforadas de 25 x 15 cm. El material plástico en ambos casos fue polipropileno y el distribuidor AMCOR Flexibles (Madrid, España).

En el caso de la película plástica macroperforada el área perforada por envase fue de 28 cm² (14 poros grandes, de 8 mm de diámetro)(fotografía 8).

Las características de la película plástica microperforada (fotografía 8) son las que se reflejan a continuación:

MATERIAL	Polipropileno
ESPESOR	35 µm
DIÁMETRO DEL PORO	50 – 200 µm (27 microporos por bolsa)
PERMEABILIDAD AL O₂	4366 ml/día
PERMEABILIDAD AL CO₂	2833 ml/día
β*	1,54

*Selectividad, cociente entre la permeabilidad del plástico al CO₂ y la permeabilidad del plástico al O₂.

En cada bolsa se introdujeron 200 gramos de judía verde (1 ración) y posteriormente se cerraron mediante una termoselladora PK-305H (Sorbent Systems, IMPAK Corporation, LA, EEUU).



Fotografía 8. Aspecto de las bolsas macroperforadas (izquierda) y microperforadas (derecha) antes del envasado de las judías y posterior termosellado.

3.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El estudio microbiológico es uno de los aspectos que nos ayuda a determinar la vida útil de nuestro producto y por supuesto su aptitud sanitaria, teniendo en cuenta el proceso de elaboración, conservación y características del producto.

La analítica microbiológica incluyó el recuento de los microorganismos totales y de diversos grupos microbianos comúnmente implicados en el deterioro de los productos vegetales, F^a *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. y Mohos y Levaduras. También se determinó la presencia/ausencia de *Salmonella* spp. y el recuento de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* según se contempla en la legislación vigente para este tipo de productos:

- Reglamento 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, y su modificación
- Reglamento 1441/2007 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios

En estos Reglamentos las judías verdes en IV gama se encuadran dentro del grupo de alimentos denominado: “Frutas y hortalizas troceadas (listas para su consumo)” y deben cumplir los siguientes criterios microbiológicos:

Microorganismo	Plan de muestreo		Límites		Método de referencia	Fase en la que se aplica el criterio
	n	c	m	M		
<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 25 g		ISO 6759	Productos comercializados durante su vida útil
<i>Escherichia coli</i>	5	2	100 ufc/g	1000 ufc/g	ISO 16649	Proceso de elaboración
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		ISO11290-2	Productos comercializados durante su vida útil
	5	0	Ausencia en 25 g		ISO 11290-1	Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido

El marco normativo de iniciativa nacional, desarrollado principalmente en la década de los ochenta, incluía un número de criterios microbiológicos muy superior al establecido en el Reglamento 2073/2005. Dichos criterios nacionales habían perdido su vigencia total o parcialmente al no adaptarse a principios internacionalmente aprobados ni basarse en la determinación formal del riesgo. La convivencia entre los criterios nacionales y el reglamento comunitario, inducía a confusión a los operadores de las empresas alimentarias que habían de aplicarlos. Por ello, en el año 2010 se procedió a la publicación del Real Decreto 135/2010, de 12 de febrero, por el que se derogaron disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios. De esta manera quedaron derogados los criterios microbiológicos presentes en el Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. En este Real Decreto las frutas y hortalizas mínimamente procesadas se encuadran dentro del Grupo D: comidas preparadas envasadas, a base de vegetales crudos y debían cumplir los siguientes criterios microbiológicos respecto a los microorganismos indicadores, en este caso aerobios mesófilos totales:

Microorganismo	Día de fabricación	Día de caducidad
Aerobios mesófilos totales	N=5 c=2	N=5 c=2
	m=10 ⁵	m=10 ⁶
	M=10 ⁶	M=10 ⁷

Aún derogado estos límites pueden ayudarnos a establecer la calidad microbiológica de nuestro producto.

Los análisis microbiológicos se realizarán tras el cortado y despuntado y tras la aplicación de los tratamientos de descontaminación. Durante la conservación del producto en refrigeración también se tomarán muestras en los días 3, 7, 10, 14, 17 y 21.

3.4.1. TOMA DE MUESTRAS Y DILUCIÓN INICIAL

Se analizarán 3 muestras por cada lote y día de control. Cada una de las muestras estará compuesta por 25 gramos de judía verde. En condiciones asépticas los introduciremos en frascos de 250 ml con 225 ml de Agua de Peptona Tamponada estéril. A continuación cerraremos los frascos y los agitaremos en un Vibromatic modelo P (Selecta, España) donde serán agitados durante 10 min a 600 U/min (fotografía 9).



Fotografía 9. Vibromatic y frascos de la dilución inicial con judías en su interior durante el proceso de agitación

3.4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los medios de cultivo utilizados, la técnica de siembra y las condiciones de incubación para cada uno de los microorganismos estudiados se detallan en la tabla 6. Para ello se siguieron las normativas ISO (International Organization for Standardization) que se detallan en la tabla 6, con algunas modificaciones en los casos que se señalan.

Tabla 6. Microorganismos analizados, normativas ISO, medios de cultivo y condiciones de siembra e incubación utilizados.

MICROORGANISMO	ISO	MEDIO CULTIVO y CASA COMERCIAL	TÉCNICA DE SIEMBRA	INCUBACIÓN
Aerobios mesófilos totales	4833:2003a	Agar de Recuento en Placa (PCA) Merck, Darmstad, Germany	Superficie	72 h a 30 °C
Mohos y Levaduras	7954:1998b	Agar Dicloran Rosa de Bengala y Cloranfenicol (DRBC) Merck	Superficie	72 h a 24 °C
Enterobacterias	21528-2:2004	Agar Biliado-Glucosa-Rojo neutro-cristal Violeta (VRBG) Merck	Homogenización en masa	24 h a 30 °C
<i>Pseudomonasspp.</i>	13720:1995	Agar Base para Pseudomonas suplementado con Cetrimida, FucidinayCefaloridina(CFC) Oxoid, Hampshire, RU	Superficie	24/48 h a 24 °C
<i>E. coli</i>	7251:2005	Agar Biliado-Lactosa-Rojo neutro-cristal Violeta (VRBL) Merck	Homogenización en masa	24 h a 44 °C
<i>L. monocytogenes</i>	-	Ver 3.4.2.1.	Superficie	48 h a 37 °C
<i>Salmonella spp.</i>	6579:2002	Ver3.4.2.2	-	-

a) La norma ISO recoge siembra por homogeneización en masa

b) La norma ISO recomienda el Agar Sabouraud Cloranfenicol

En los epígrafes siguientes, y dada su mayor complejidad, se detalla el procedimiento de recuento de *Listeria monocytogenes* y de detección de *Salmonella* spp.

3.4.2.1. RECUENTO DE *Listeria monocytogenes*

Para el recuento de *Listeria monocytogenes* la dilución inicial o dilución madre se dejó reposar durante 6 horas a 24 °C, tiempo tras el cual 0,1 ml fueron sembrados en Agar Listeria Octtaviani Agosti (ALOA) (Biolife, Milán, Italia). Tras 24 - 48 h de incubación a 37 °C se procedió a determinar el número de colonias típicas: colonias pequeñas de color azul y con un halo alrededor.

3.4.2.2. DETECCIÓN DE *Salmonella* spp.

Para ello nos basaremos en la normativa UNE-EN ISO 6579:2002 (Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp). Éste método se divide en cuatro pasos:

preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo, siembra e identificación y confirmación.

- *Preenriquecimiento*

El medio de preenriquecimiento no selectivo será Agua de Peptona Tamponada (APT). Una vez terminado el análisis de los otros microorganismos, llevaremos a una estufa a 37 °C los frascos y los dejaremos 24 horas.

Es un paso importante para que los microorganismos se recuperen; así detectaremos recuentos bajos y/o bacterias lesionadas. El Agua de Peptona Tamponada será necesaria para mantener el pH y favorecer el crecimiento de *Salmonella*.

- *Enriquecimiento selectivo*

En esta etapa es clave para inhibir microorganismos competidores y facilitar el crecimiento de *Salmonella*. Utilizaremos 2 caldos: Rappaport-Vassiliadis (RV) (Merck) y Caldo Tetrationato (Muller Kauffmann Tetrathionate Broth Base, Merck). Pasadas las 24 horas del preenriquecimiento inocularemos 0,1 ml del frasco a un tubo de ensayo con 10 ml de Rappaport-Vassiliadis y 1 ml del mismo frasco a otro tubo con 10 ml de Caldo Tetrationato; dejaremos incubar ambas muestras a 41,5 °C y 37 °C respectivamente 24 horas.

- *Siembra e identificación*

Los medios selectivos sólidos serán: XLD (Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato) (Merk) y Verde Brillante. Sembraremos por agotamiento con dos asas de platino, de cada caldo en los dos medios y dejaremos incubar 24 horas a 37 °C.

En la lectura de placas ninguna de ellas apuntaba a *Salmonella*, por lo que no hizo falta hacer pruebas de confirmación.

3.5. MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN GASEOSA EN EL INTERIOR DE LOS ENVASES MICROPERFORADOS

Para la medida de la concentración gaseosa en el interior de los envases microperforados se tomaron muestras de su interior con una jeringa y cerrando inmediatamente el orificio para mantener la hermeticidad. La determinación del porcentaje de O₂ y CO₂ se realizó mediante un analizador automático de gases (PBI DASENSOR CHECKMATE II) (fotografía 10). La medida de estas concentraciones se realizó en el día 0, 3, 7, 10, 15 y 21. Se analizaron 3 envases por lote y por día de medida.



Fotografía 10. Medidor automático de O₂ y CO₂ PBI DANSENSOR CHECKMATE II

3.6. ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial, junto a los datos obtenidos en los recuentos microbiológicos, nos ayudó a establecer el periodo de vida útil durante el cual las judías mantenían una máxima calidad.

El análisis sensorial fue llevado a cabo por tres investigadores con experiencia previa en la evaluación sensorial de estos productos. Este análisis se realizó por consenso entre los tres evaluadores e incluyó:

- La evaluación del aspecto general externo donde se valoró la aparición de colores extraños como tonos marrones por pardeamiento enzimático, por modificaciones de la clorofila, por crecimiento microbiano y los efectos de la deshidratación.
- La textura entre muy firme o gomosa en exceso
- La aparición de aromas extraños a la apertura de los envases

Por último, se calificaba al lote como apto o no apto para el consumo.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos de los recuentos microbiológicos se utilizó el programa SPSS de Windows en su versión 19.0. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Tukey estableciendo un nivel de significación, $p < 0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentan en este capítulo los resultados obtenidos en el estudio de descontaminación y conservación en atmósferas modificadas de la judía *Helda Dona* mínimamente procesada. Como se podrá observar se ha hecho especial hincapié en el estudio microbiológico y en la evaluación sensorial del producto, obviando otros aspectos de la calidad físico-química como pueden ser la medida instrumental del color o de la textura. Ambos parámetros habían sido estudiados con anterioridad y se observó que no aportaban datos concluyentes sobre la calidad del producto. En el caso del color, alteraciones evidentes a simple vista no se veían reflejadas en los datos de coordenadas CIElab obtenidas, y en el caso de la textura la situación era muy similar ya que la pérdida de turgencia que se produce con la conservación tampoco era detectada por el texturómetro.

Los resultados se han organizado en cinco epígrafes:

4.1. Evolución de la composición gaseosa en el interior de los envases microperforados

4.2. Efecto de los tratamientos descontaminantes y evolución de los microorganismos durante la conservación

4.3. Análisis de microorganismos patógenos

4.4. Elección del tratamiento descontaminantes, del sistema de envasado y establecimiento de la vida útil en función de los recuentos microbiológicos

4.5. Análisis sensorial

Como se podrá observar sólo se han incluido los datos obtenidos hasta los 10 días de conservación, a pesar de que los análisis se realizaron hasta los 21 días. Este hecho se debe a que en el día 14 la calidad de las judías verdes ya no era la máxima y por tanto se consideró que los lotes no eran comercializables.

4.1. EVOLUCIÓN DE LA COMPOSICIÓN GASEOSA EN EL INTERIOR DE LOS ENVASES MICROPERFORADOS

A lo largo de la vida de la judía verde mínimamente procesada el vegetal sigue respirando, en este caso dentro del envase. En estudios anteriores realizados en el Grupo de Investigación Alimentos de origen Vegetal se estableció que la judía *Helda Dona* mínimamente procesada tenía una velocidad de respiración a 4 °C de 27 ml O₂ consumido/kg · h y de 13 ml CO₂ producido/kg · h y se observó como la disminución del O₂ y el aumento del CO₂ en el ambiente que la rodeaba obtenía una reducción significativa de

esta actividad. Es por ello que el uso de atmósferas modificadas reducidas en O₂ y aumentadas en CO₂ podrían ayudarnos a disminuir su metabolismo y por tanto, a retrasar su proceso de envejecimiento aumentando su calidad y vida útil.

Como era de esperar en el interior del envase con macroperforaciones no varió la composición de los gases debido al constante intercambio de aire con el exterior. Sin embargo, la permeabilidad selectiva de la película plástica con microperforaciones si que nos permite modificar la atmósfera interna. Debido a los cambios en la actividad respiratoria que se producen con el paso de los días, es necesario conocer la concentración gaseosa de los envases en cada punto de control. En la tabla 7 se muestran las concentraciones de O₂ y CO₂ en los diferentes días de conservación.

Tabla 7. Concentraciones de O₂ y CO₂ en el interior de los envases microperforados conteniendo judía verde mínimamente procesada y conservados a 4 °C

Composición gaseosa (%)	Día de conservación			
	0	3	7	10
O ₂	21	17,8± 0,9	17,2± 0,5	15,9± 1,1
CO ₂	0	3,1± 0,6	3,8± 0,4	5,7± 0,8

Como era de esperar, la judía verde consume el oxígeno y produce dióxido de carbono y en el día 3 de conservación ya se ha alcanzó la atmósfera de equilibrio, que en nuestro caso se estableció en torno a 17% O₂ y 3% de CO₂. A partir de la semana de conservación se observó como las concentraciones de oxígeno disminuían ligeramente estableciéndose en torno a un 16% de O₂ y un 6% de CO₂. Estos resultados confirman los datos obtenidos en estudios anteriores corroborando el comportamiento respiratorio de esta variedad y la adecuación de la película plástica seleccionada.

4.2. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DESCONTAMINANTES Y EVOLUCIÓN DE LOS MICRORGANISMOS DURANTE LA CONSERVACIÓN

En el siguiente capítulo analizaremos los resultados obtenidos en forma de gráficas, con los dos tipos de envase utilizados y los cuatro grupos de microorganismos analizados. Se discutirá la influencia del tratamiento descontaminante en la disminución y posterior evolución de las poblaciones microbianas y en la medida de lo posible se compararán los resultados obtenidos con el envasado microperforado y macroperforado. Los datos del análisis estadístico en el cual se establecen las diferencias entre los distintos lotes para un mismo día y tipo de envasado se detallan en el anexo 1.

4.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN MICROBIANA INICIAL DE LA JUDÍA VERDE MÍNIMAMENTE PROCESADA

En la tabla 8 se presentan los recuentos iniciales obtenidos en la judía verde tras su despuntado y cortado, datos que corresponderían a los que luego veremos reflejados como lote control día 0.

Tabla 8. Recuentos microbianos en las judías verdes mínimamente procesadas tras su despuntado y cortado

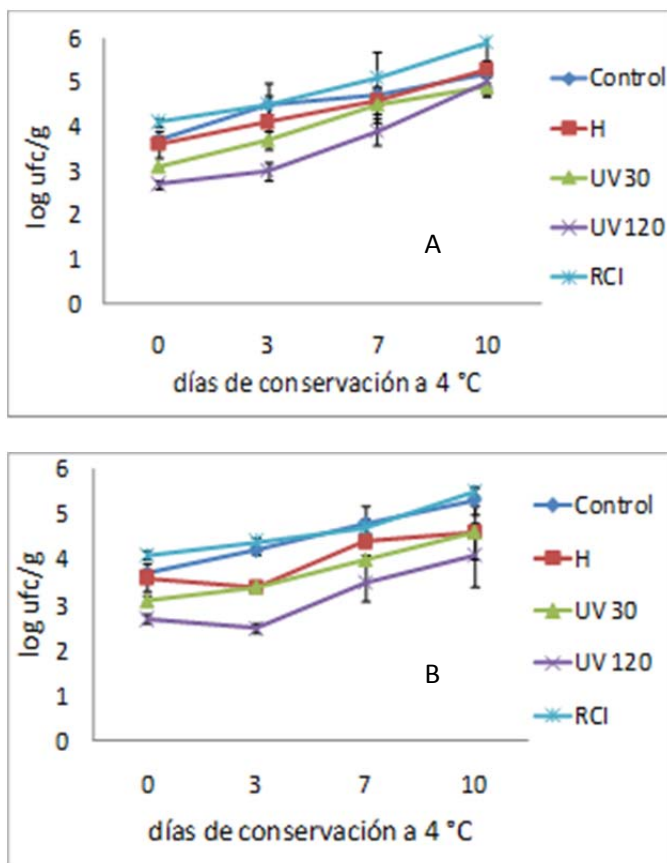
Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g)			
	Aerobios mesófilos totales	F ^a <i>Enterobacteriaceae</i>	G ^e <i>Pseudomonas</i>	Mohos y Levaduras
Control día 0	3,7 ± 0,1	2,9 ± 0,2	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,1

Como se observa en la tabla 8 las poblaciones de aerobios mesófilos totales fueron de 3,7 unidades logarítmicas (u.log) por gramo siendo el G^e *Pseudomonas* el grupo microbiano predominante con 3,2 u.log/g, seguido de los mohos y levaduras con 3,0 u.log/g y por último las enterobacterias con 2,9 u.log/g.

En otros estudios realizados sobre otro tipo de vegetales los recuentos iniciales fueron algo diferentes a los nuestros. Por ejemplo en hojas de espinaca mínimamente procesadas (Artés-Hernández, et al., 2008) los recuentos iniciales para aerobios mesófilos totales fueron del orden de 5,2 u.log/g y para enterobacterias de 4,1 u.log/g.

4.2.2. AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES

En la gráfica 1 se muestran los recuentos de aerobios mesófilos totales tanto en las judías verdes sin tratar (control) como en las tratadas con las tres diferentes técnicas de descontaminación tanto en el día 0 (tras la descontaminación) como en los posteriores días de conservación (3, 7 y 10).



Gráfica 1. Evolución de los aerobios mesófilos totales tras la descontaminación y a lo largo de la vida útil de la judía verde en IV Gama. A) Envase macroperforado y B) microperforado.

Como ya hemos reseñado antes, el recuento inicial de aerobios mesófilos totales fue de 3,7 u.log/g en el lote control. La descontaminación con hipoclorito sódico (200 ppm) no produjo una reducción significativa de los recuentos quedando éstos prácticamente iguales (3,6 u.log/g). Donde sí que se observó una reducción significativa ($p < 0,05$) fue en los lotes tratados con radiación UV-C reduciéndose los recuentos en 0,6 u.log/g y 1 u.log/g para el tratamiento de 30 s y de 120 s, respectivamente. Por el contrario, en el tratamiento RCI no se detectó ningún efecto descontaminante sino un ligero aumento de los recuentos (4,1 u.log/g) lo que podría deberse a las 48 h que el producto se encuentra almacenado en la cámara.

A) Envase macroperforado

Los recuentos de aerobios mesófilos aumentaron en 0,5 u.log/g en cada punto de control. Al final de la conservación las judías tratadas con RCI alcanzaron las 6 u.log/g y el resto de lotes obtuvieron 5 u.log/g. Como se puede observar en la gráfica 1 y en la tabla 1 del anexo 1 las diferencias establecidas en la descontaminación inicial se minimizan con el paso de los días llegando a unos recuentos similares en el día 10 para las judías control y las tratadas con UV ó hipoclorito y no detectándose por tanto, diferencias significativas (anexo 1, tabla 1).

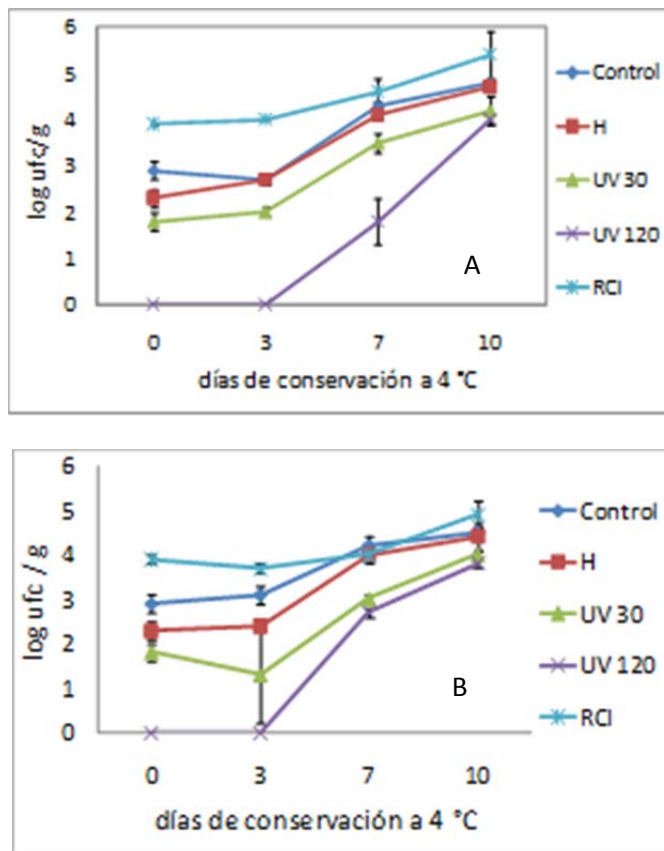
B) Envase microperforado

Como en el caso anterior, los recuentos de aerobios mesófilos aumentaron de manera estable. En el día 10 las judías tratadas con RCI y el control alcanzaron las 5,5 y 5,3 u.log/g, respectivamente, y los lotes tratados con hipoclorito y UV 30 segundos se situaron en torno a las 4,6 u.log/g no detectándose diferencias significativas entre estos 4 lotes. Únicamente en el tratamiento UV-C 120 s, que alcanza 4,1 u.log/g en el día 10, se refleja la disminución de los recuentos obtenida tras la descontaminación.

Si tomamos como referencia en Real Decreto 3484/2000 los aerobios mesófilos totales no deben superar 10^6 ufc/g en el día de fabricación y 10^7 ufc/g en el día de caducidad. En nuestro caso ninguno de los lotes analizados supera estos valores.

4.2.2. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

En la gráfica 2 se muestran los recuentos de la Fª *Enterobacteriaceae* tanto en las judías verdes sin tratar (control) como en las tratadas con las tres diferentes técnicas de descontaminación tanto en el día 0 (tras la descontaminación) como en los posteriores días de conservación (3, 7 y 10).



Gráfica 2. Evolución de la Fª *Enterobacteriaceae* tras la descontaminación y a lo largo de la vida útil de la judía verde en IV Gama. A) Envase macroperforado y B) microperforado.

El recuento inicial de enterobacterias fue de 3 u.log/g de judía. El tratamiento con hipoclorito sódico obtuvo únicamente 0,5 u.log/g de reducción por lo que sus

recuentos no difieren significativamente de los del lote sin descontaminar (anexo 1, tabla 3). La aplicación de radiación ultravioleta durante 30 segundos redujo en 1 u.log/g las enterobacterias, y cuando el tiempo de tratamiento se aumentó a 120 segundos los recuentos de este grupo microbiano descendieron hasta un nivel indetectable. A diferencia del resto de tratamientos la RCI no consiguió reducir la población de enterobacterias sino que incluso se detectó un aumento de estos microorganismos, de 3 a 4 u.log/g, tras un tiempo de tratamiento de 48 horas.

a) Envase macroperforado

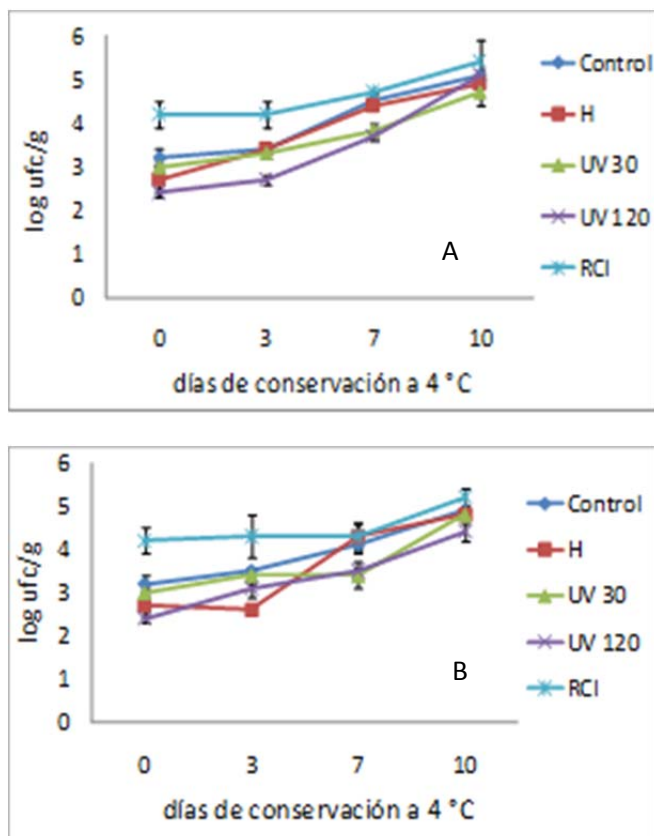
Los recuentos de enterobacterias se mantuvieron muy similares a los del día 0 durante los 3 primeros días de conservación y en todos los lotes. A partir de aquí aumentaron sensiblemente, especialmente en el lote descontaminado con radiación UV-C durante 120 segundos donde de no detectadas pasaron a obtener recuentos de 1,8 u.log/g en el día 7 y de aproximadamente 4 u.log/g en el día 10, siendo esta población muy similar a la de su lote homólogo tratado durante 30 segundos. En el resto de lotes también se observó este aumento obteniendo, al final de la conservación, recuentos de 5 u.log/g en el tratamiento RCI y de 4 u.log/g en el lote control y en el tratado con hipoclorito sódico.

b) Envase microperforado

Los recuentos se mantuvieron estables hasta el día 3, salvo en UV-C a 30 segundos donde se observó un ligero descenso de 0,5 u.log/g. Los recuentos para UV-C a 120 segundos en el día 3 siguen siendo indetectables pero aumentaron sensiblemente en los días 7 y 10 obteniendo 2,8 y 3,8 u.log/g, respectivamente, siendo aun así menores a los obtenidos en el lote control o en el lote tratado con hipoclorito.

4.2.3. *PSEUDOMONAS* SPP.

En la gráfica 3 se muestran los recuentos de *Pseudomonas* spp. tanto en las judías verdes sin tratar (control) como en las tratadas con las tres diferentes técnicas de descontaminación tanto en el día 0 (tras la descontaminación) como en los posteriores días de conservación (3, 7 y 10).



Gráfica 3. Evolución del Gº *Pseudomonas* tras la descontaminación y a lo largo de la vida útil de la judía verde en IV Gama. A) Envase macroperforado y B) microperforado.

En el caso de *Pseudomonas* spp. se detectó una reducción no significativa de 0,5 u.log/g en el tratamiento con hipoclorito sódico. El mayor efecto descontaminante se obtiene con el tratamiento UV-C a 120 segundos que redujo la población de estos microorganismos en más de 1 u.log/g, hasta 2,4 u.log/g. El tratamiento con RCI de nuevo mostró diferencias significativas (anexo 1, tabla 5) con los otros tratamientos ya que obtuvo un recuento que superó las 4 u.log/g, como sucedió en la Fª *Enterobacteriaceae*.

a) Envase macroperforado

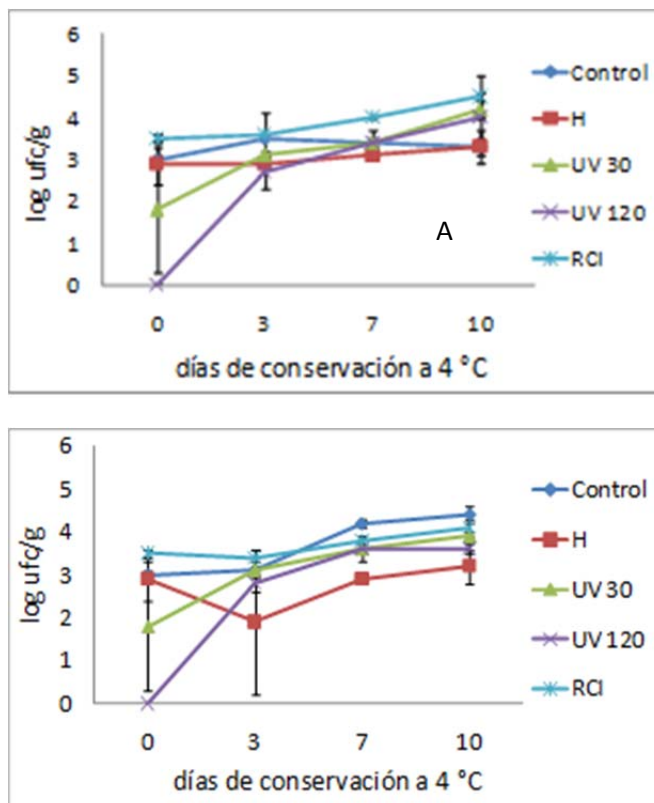
Los recuentos en el día 3 se mantienen estables o con pequeños aumentos respecto al día 0, salvo para las judías tratadas con hipoclorito, donde aumentaron 0,7 u.log/g. En el día 7 ya podemos apreciar un aumento de hasta 1 u.log/g en los lotes control, hipoclorito y UV a 120 segundos. En el día 10 de nuevo aumentaron entre 0,6 y 1 u.log/g y todos los recuentos se estabilizaron en 5 u.log/g salvo para las judías tratadas con RCI que alcanzaron 5,4 u.log/g. Al igual que en los casos anteriores el tratamiento con UV-C obtiene unos recuentos menores al resto de lotes pero éstos se igualan en el día 10 de análisis.

b) Envase microperforado

En el día 3, los recuentos se mantienen estables, salvo para el tratamiento UV-C 120 segundos que aumentó 0,7 u.log/g. En el día 7 los recuentos siguen aumentando salvo para UV 30 segundos y RCI. Cabe destacar en el lote tratado con hipoclorito un aumento de casi 2 u.log/g entre los días 3 y 7. En el día 10 los recuentos alcanzaron entre 4,5 y 5 u.log/g, por lo que de nuevo las diferencias significativas entre los lotes tratados con UV-C y el resto desaparecen.

4.2.4. MOHOS Y LEVADURAS

En la gráfica 4 se muestran los recuentos de mohos y levaduras tanto en las judías verdes sin tratar (control) como en las tratadas con las tres diferentes técnicas de descontaminación tanto en el día 0 (tras la descontaminación) como en los posteriores días de conservación (3, 7 y 10).



Gráfica 4. Evolución de los mohos y levaduras tras la descontaminación y a lo largo de la vida útil de la judía verde en IV Gama. A) Envase macroperforado y B) microperforado.

El recuento inicial de mohos y levaduras fue 3 u.log/g para el lote control. Idénticos recuentos se obtuvieron tras el tratamiento con hipoclorito sódico y un aumento hasta 3,5 u.log/g se detectó para el tratamiento RCI. Sin embargo, en el lote UV-C a 30 segundos se enumeraron menos de 2 u.log/g y en el caso de UV-C a 120 segundos los recuentos se redujeron por debajo del límite de detección. Por tanto, se

detectan diferencias significativas entre los lotes tratados con UV-C y el resto (anexo 1, tabla 7).

a) Envase macroperforado

Durante toda la vida útil de la judía verde *Helda Dona* mínimamente procesada no se produjo un incremento significativo de los recuentos de mohos y levaduras ni en el lote control ni en el tratado con hipoclorito. Sin embargo, sí que se produjo un aumento considerable en los mohos y levaduras en los lotes tratados con radiación UV-C que al final de la conservación alcanzan recuentos superiores al resto, con 4,1 y 4,2 u.log/g, para UV-C a 30 y 120 segundos, respectivamente mientras que el lote tratado con hipoclorito sódico y el lote control se establecieron en 3,3 u.log/g.

b) Envase microperforado

En el día 3, los recuentos de mohos y levaduras disminuyeron en 1 u.log/g para el lote tratado con hipoclorito sódico, los lotes tratados con UV-C aumentaron hasta 3 u.log/g y el control y RCI se mantuvieron estables. En el día 7 se detectó un aumento de aproximadamente 1 unidad logarítmica para el control y para el lote con hipoclorito, que aun así no alcanzó los recuentos del resto de lotes detectándose por tanto diferencias significativas. En el día 10, de nuevo, el lote tratado con hipoclorito obtuvo los menores recuentos, con 3,2 u.log/g, siendo estos significativamente más bajos que los obtenidos en los lotes control, UV-C a 30 segundos y RCI.

4.3. ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

Para asegurar la calidad microbiológica de la judía verde deberemos analizar los microorganismos patógenos establecidos en el RD 135/2010, que deroga los apartados 11 y 12 del artículo 6 y anexo del Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. Dichos microorganismos son *E. coli*, *Salmonella* spp. Y *L. monocytogenes*. Ninguno de estos microorganismos fue detectado en las muestras de judía ni en el día 0 ni a lo largo de su vida útil (días 3, 7 y 10) por lo que la calidad higiénica de nuestras muestras es la correcta.

4.4. ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO DESCONTAMINANTE, DEL SISTEMA DE ENVASADO Y ESTABLECIMIENTO DE LA VIDA ÚTIL EN FUNCIÓN DE LOS RECUENTOS MICROBIOLÓGICOS

4.4.1. VIDA ÚTIL MÁXIMA

Como se deduce de las gráficas de evolución microbiana la vida útil máxima de nuestro producto se estableció en 10 días. Este hecho se debe a que los datos obtenidos en el día 14 de conservación superan en algunos casos a los recomendados en el Real Decreto 3484/2000 por lo que prolongar más allá el periodo de almacenamiento conllevaría riesgos, incluso de alteración microbiológica, como ya se detecta en algunos lotes en el día 17 en los que aparece un limo superficial por crecimiento bacteriano.

4.4.2. SISTEMA DE ENVASADO: MACROPERFORADO O MICROPERFORADO

En función de los datos obtenidos en el análisis microbiológico no podemos establecer diferencias significativas entre el envasado en películas plásticas macroperforadas o microperforadas.

4.4.3. TRATAMIENTO DE DESCONTAMINACIÓN

En este caso si que se pueden establecer diferencias significativas entre los recuentos obtenidos. Evidentemente, si analizamos los resultados inmediatamente tras la aplicación del tratamiento descontaminante el elegido sería la radiación **ultravioleta-C aplicada durante 120 segundos** ya que la disminución que obtiene en los recuentos es significativa para todos los grupos microbianos e incluso dos de ellos, enterobacterias y mohos y levaduras, no son detectados. Esta disminución inicial ocasiona que los recuentos de aerobios mesófilos totales, enterobacterias y pseudomonas sean significativamente menores al resto de los lotes hasta el día 3. A partir de esta fecha los recuentos de este lote aumentan sensiblemente pero, a pesar de que en el día 10 de conservación sus recuentos no difieren significativamente del resto, raramente los superan.

La aplicación de UV-C como tratamiento descontaminante presenta diversas ventajas: no genera residuos, no precisa de agua de lavado con lo que se reduce la generación de efluentes, no tiene riesgos de que el envasado se produzca con un exceso de humedad que pueda conllevar la alteración del producto durante su

comercialización y agiliza el proceso ya que únicamente se requieren de 2 minutos de tratamiento.

Según Artés-Hernández, et al. (2008) las dosis de radiación más efectivas eran las bajas o medias, debido a que dosis elevadas producían daños en los tejidos del vegetal y por ello afectaba a su calidad sensorial. En los meses de Mayo y Junio se hicieron sucesivos ensayos para comprobar qué dosis no afectaban a la calidad sensorial de judía verde. Y coincidiendo con este artículo concluimos que una dosis efectiva eran 3,6 kJ/m².

A pesar de que las reducciones obtenidas con el **hipoclorito sódico** no han sido significativas, tampoco podemos descartarlo como tratamiento descontaminante en el caso de que las judías presentasen restos de materia orgánica y precisasen de un lavado antes de su procesado. Decir que dado que no se ha detectado una actividad desinfectante notable con 200 ppm se podría disminuir esta dosis pero eso sí, garantizando siempre la calidad higiénica del agua de lavado tras varios ciclos de procesado.

La utilización de cloro para la descontaminación del agua de lavado de productos mínimamente procesados es lo más habitual hoy en día por su eficacia y economía, pero presenta dos inconvenientes principales: las posibles alergias en consumidores sensibles y la generación de trihalometanos, con toxicidad hepática y renal. Además, estudios sobre la actividad antimicrobiana del cloro han demostrado que ciertos componentes de los tejidos de los productos hortofrutícolas lo neutralizan anulando su eficacia. Beuchat et al. (2004) atribuyeron el rápido descenso de la concentración de cloro en el agua de lavado de lechuga mínimamente procesada a la materia orgánica inicial aportada por los jugos que producía el producto como consecuencia de los daños causados durante las operaciones de procesado. También se ha observado que su efectividad se ve limitada por la inaccesibilidad a las células microbianas que se localizan en huecos, fisuras, grietas, pliegues, y aberturas naturales en la superficie del producto. De los estudios publicados se puede deducir que la eficacia bactericida de las soluciones cloradas es muy marcada en los primeros momentos del tratamiento, disminuyendo rápidamente después (Brackett, 1987).

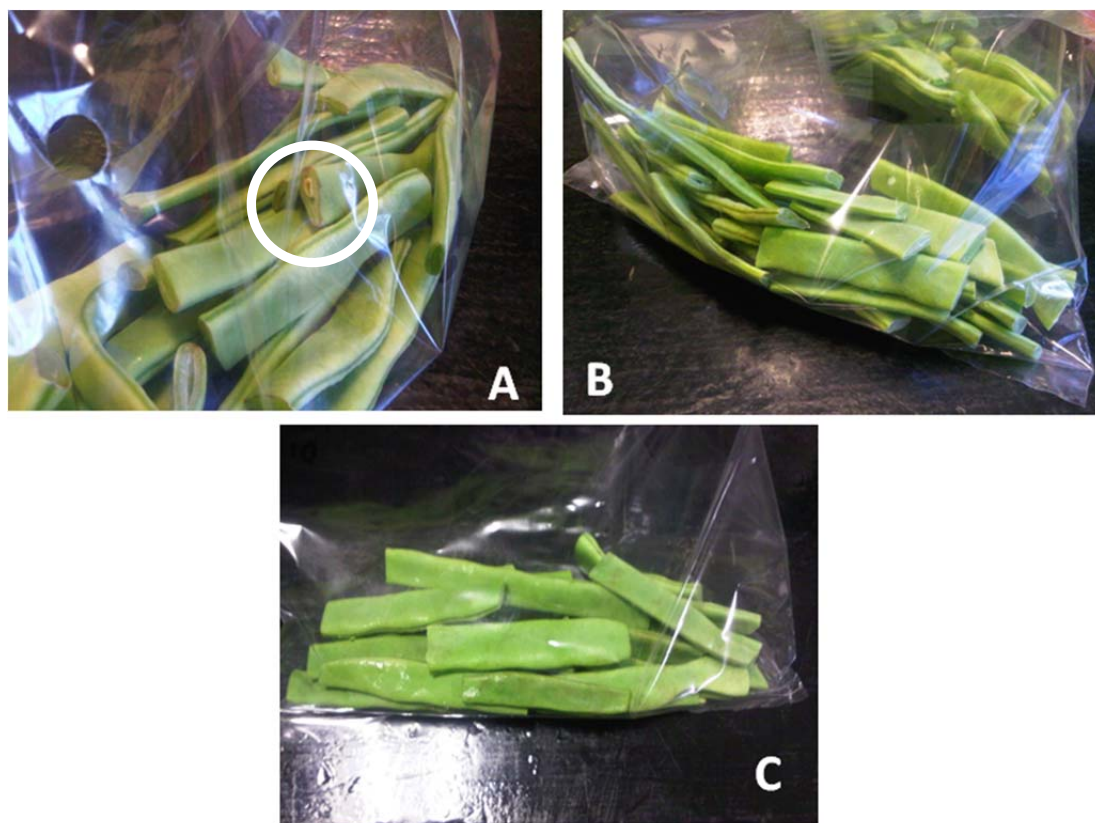
4.5. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LAS JUDÍAS VERDES

Los lotes de judías *Helda Dona* mínimamente procesadas que obtienen la máxima calidad organoléptica o sensorial son los tratados con hipoclorito sódico ó con radiación ultravioleta-C (30 ó 120 segundos) y envasados en las películas plásticas

microperforadas. A continuación se presentan algunas fotografías que avalan esta conclusión.

En la figura 4 podemos observar el lote tratado con hipoclorito sódico tras 10 días de conservación y envasado en la película plástica macroperforada (A) o microperforada (B) y este mismo lote tras 14 días de conservación (C). En el caso de la película plástica macroperforada se detectó un ligero pardeamiento de la superficie de corte que no se observó en las judías envasadas en la película plástica microperforada. Por tanto, el uso de plásticos microperforados además de minimizar la deshidratación del producto retrasa la aparición del pardeamiento enzimático. Este efecto también se observa en el resto de lotes.

Figura 4. Judías *Helda Dona* mínimamente procesadas descontaminadas con hipoclorito sódico (200 ppm) durante 5 minutos. A) Tras 10 días de conservación y envasadas en película plástica macroperforada; B) Tras 10 días de conservación y envasadas en película plástica microperforada; C) Tras 14 días de conservación y envasadas en película plástica microperforada.



En la figura 5 podemos observar como la calidad visual de las judías *Helda Dona* tratadas con UV-C, 30 a 120 segundos, se mantiene excelente en el día 10 de conservación. Al igual que en el lote tratado con hipoclorito sódico y envasado en película plástica microperforada las judías mantienen su turgencia y no presentan signos de pardeamiento enzimático, ni de crecimiento microbiano.

Figura 5. Judías *Helda Dona* mínimamente procesadas descontaminadas con radiación UV-C. A) En el día 0 tras 30 segundos de tratamiento y envasadas en película plástica microperforada; B) Lote tratado 30 segundos tras 10 días de conservación y envasadas en película plástica microperforada; C) En el día 0 tras 120 segundos de tratamiento y envasadas en película plástica microperforada; D) Lote tratado 120 segundos tras 10 días de conservación y envasadas en película plástica microperforada;



5. CONCLUSIONES

PRIMERA

Los recuentos microbiológicos en la variedad de judía verde *Helda Dona* son bajos e inferiores a los de otros vegetales mínimamente procesados.

SEGUNDA

El grupo microbiano predominante es el Gº *Pseudomonas* junto a los mohos y levaduras.

TERCERA

El tratamiento descontaminante más efectivo ha sido la radiación UV-C aplicada durante 120 segundos (3,6 kJ/m²), seguido de su homólogo a 30 segundos.

CUARTA

Todos los tratamientos de desinfección mantienen estables los recuentos microbiológicos durante los 3 primeros días de conservación.

QUINTA

No se observa influencia del tipo de envasado (microperforado o macroperforado) en la evolución de los recuentos microbiológicos durante la conservación. Si que se observa un efecto positivo del envasado en película plástica microperforada en el mantenimiento de la humedad, y en consecuencia de la turgencia, en la minimización de la aparición de pardeamiento enzimático en las superficies de corte.

SEXTA

La calidad higiénica de la judía verde en IV gama cumple los requisitos del Real Decreto 135/2010 ya que no se detecto presencia de *Salmonella* spp, ni de *Listeria monocytogenes* ni de *Escherichia coli*.

SÉPTIMA

La vida útil durante la cual las judías verdes *Helda Dona* mantienen su máxima calidad se estableció en 10 días a 4 °C. Se recomienda para ello su descontaminación con radiación UV-C a una dosis de 3,6 kJ/m² y su envasado en un plástico microperforado con una permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono de 4366 ml/día y 2833 ml/día, respectivamente.

6. ANEXO 1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Tabla 1. Recuentos iniciales y evolución de **aerobios mesófilos totales** (AMT) en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica macroperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,7 ± 0,1 a	4,5 ± 0,2 a	4,7 ± 0,1 a	5,2 ± 0,3 a	6,2 ± 0,3
Hipoclorito	3,6 ± 0,3 a	4,1 ± 0,2 a	4,6 ± 0,3 a	5,3 ± 0,4 a	6,5 ± 0,6
UV 30	3,1 ± 0,1 b	3,7 ± 0,2 b	4,5 ± 0,4 a	4,9 ± 0,2 a	5,5 ± 0,4
UV 120	2,7 ± 0,1 b	3,0 ± 0,2 b	3,9 ± 0,3 a	5,0 ± 0,6 a	5,3 ± 0,2
RCI	4,1 ± 0,3 c	4,5 ± 0,5 a	5,1 ± 0,6 b	5,7 ± 0,5 a	7,1 ± 0,5

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 2. Recuentos iniciales y evolución de **aerobios mesófilos totales** (AMT) en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica microperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,7 ± 0,1 a	4,2 ± 0,1 a	4,8 ± 0,4 a	5,3 ± 0,3 a	6,4 ± 0,2
Hipoclorito	3,6 ± 0,3 a	3,4 ± 0,1 b	4,4 ± 0,1 a	4,6 ± 0,1 a	6,2 ± 0,7
UV 30	3,1 ± 0,1 b	3,4 ± 0,1 b	4,0 ± 0,1 b	4,6 ± 0,6 a	5,8 ± 0,2
UV 120	2,7 ± 0,1 b	2,4 ± 0,1 c	3,5 ± 0,4 c	4,1 ± 0,7 b	5,2 ± 0,1
RCI	4,1 ± 0,3 c	4,4 ± 0,1 d	4,7 ± 0,2 a	5,5 ± 0,1 a	6,8 ± 0,8

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 3.Recuentos iniciales y evolución de la F^a *Enterobacteriaceae* en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica macroperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	2,9± 0,2a	2,7± 0,1a	4,3± 0,1 a	4,8± 0,1 a	4,9± 0,5
Hipoclorito	2,3± 0,2b	2,7± 0,1a	4,1± 0,1 a	4,7± 0,1 a	5,5± 0,2
UV 30	1,8± 0,2c	2,0 ± 0,1b	3,5± 0,2 a	4,2± 0,3 a	4,5 ± 0,2
UV 120	0,0 d	0,0c	1,8± 0,5 b	4,0 ± 0,1 b	4,3 ± 0,1
RCI	3,9± 0,1 e	4,0±0,1d	4,6± 0,3 a	5,4± 0,5c	6,3± 0,6

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 4.Recuentos iniciales y evolución de la F^a *Enterobacteriaceae* en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica microperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	2,9± 0,2 a	3,1 ± 0,2 a	4,2 ± 0,2 a	4,5 ± 0,1 a	5,0± 0,4
Hipoclorito	2,3± 0,2 b	2,4 ± 0,1 a	4,0 ± 0,1 a	4,4 ± 0,3 a	5,0 ± 0,2
UV 30	1,8± 0,2 c	1,3 ± 1,1 b	3,0 ± 0,1 b	4,0 ± 0,1 b	4,6 ± 0,2
UV 120	0,0 d	0,0 b	2,8 ± 0,1 b	3,8 ± 0,1 b	4,1 ± 0,4
RCI	3,9± 0,1 e	3,7 ± 0,1 a	4,1 ± 0,2 a	4,9 ± 0,3a	5,7± 0,6

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 5. Recuentos iniciales y evolución de *Pseudomonas spp* en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica macroperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,2 ± 0,2 a	3,4 ± 0,1 a	4,5 ± 0,1 a	5,1 ± 0,2 a	6,1 ± 0,5
Hipoclorito	2,7 ± 0,3 a	3,4 ± 0,1 a	4,4 ± 0,1 a	4,9 ± 0,2 a	6,6 ± 0,4
UV 30	3,1 ± 0,1 a	3,3 ± 0,1 a	3,8 ± 0,2 b	4,7 ± 0,2 a	5,5 ± 0,1
UV 120	2,4 ± 0,3 b	2,7 ± 0,1 b	3,7 ± 0,1 b	5,1 ± 0,3 a	5,8 ± 0,3
RCI	4,1 ± 0,7 c	4,2 ± 0,3 c	4,7 ± 0,1 c	5,4 ± 0,4 a	6,6 ± 0,7

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

Tabla 6. Recuentos iniciales y evolución de *Pseudomonas spp* en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica microperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,2 ± 0,2 a	3,5 ± 0,1 a	4,1 ± 0,2 a	4,9 ± 0,1 a	5,9 ± 0,2
Hipoclorito	2,7 ± 0,3 a	2,6 ± 0,1 b	4,3 ± 0,3 a	4,8 ± 0,1 a	6,6 ± 0,6
UV 30	3,1 ± 0,1 a	3,4 ± 0,2 a	3,4 ± 0,3 b	4,8 ± 0,1 a	5,3 ± 0,4
UV 120	2,4 ± 0,3 b	3,1 ± 0,2 a	3,5 ± 0,1 b	4,4 ± 0,2 b	5,0 ± 0,2
RCI	4,1 ± 0,7 c	4,3 ± 0,5 c	4,3 ± 0,3 a	5,2 ± 0,2 c	6,5 ± 0,3

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 7. Recuentos iniciales y evolución de **Mohos y Levaduras** en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica macroperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,0 ± 0,1 a	3,4 ± 0,1 a	3,4 ± 0,1 a	3,3 ± 0,1 a	4,4 ± 0,2
Hipoclorito	2,9 ± 0,5 a	2,9 ± 0,1 a	3,2 ± 0,1 a	3,3 ± 0,3 a	3,7 ± 0,4
UV 30	1,8 ± 1,6 b	3,1 ± 0,1 a	3,4 ± 0,3 a	4,2 ± 0,2 b	4,3 ± 0,3
UV 120	0,0 c	2,7 ± 0,3 a	3,4 ± 0,1 a	4,1 ± 0,2 b	4,5 ± 0,1
RCI	3,5 ± 0,1 a	3,6 ± 0,5 b	4,0 ± 0,1 b	4,5 ± 0,4 b	5,7 ± 0,5

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

Tabla 8. Recuentos iniciales y evolución de **Mohos y Levaduras** en las judías verdes *Helda Dona* en el lote sin tratar (control) y en los lotes con tratamiento descontaminante envasados en película plástica microperforada y conservados a 4 °C.

Lote	Recuentos microbianos (log ufc/g) ^a				
	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 7	DÍA 10	DÍA 14
Control	3,0 ± 0,1 a	3,1 ± 0,1 a	4,2 ± 0,1a	4,4 ± 0,2 a	5,1 ± 0,3
Hipoclorito	2,9 ± 0,5 a	1,9 ± 1,6 a	2,9 ± 0,1b	3,2 ± 0,4 b	3,4 ± 0,2
UV 30	1,8 ± 1,6 b	3,1 ± 0,2 a	3,6 ± 0,1c	3,9 ± 0,1 a	4,2 ± 0,2
UV 120	0,0 c	2,8 ± 0,2 a	3,6 ± 0,3c	3,6 ± 0,1 b	4,0 ± 0,4
RCI	3,5 ± 0,1 a	3,4 ± 0,2 a	3,8 ± 0,1a	4,1 ± 0,2 a	5,1 ± 0,3

^a Los valores corresponden a la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Se ha omitido el análisis estadístico del día 14.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Ati, T., Hotchkiss, J.H.,** (2002). Application of packaging and modified atmosphere to fresh-cut fruits and vegetables. In: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*, Science, Technology and Market. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 305–338.
- Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S.Y., Nicolas, J.,** (1992). Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*, 57 (4): 958-962.
- Artés, F.,** (2000). Productos vegetales procesados en fresco. En: *Aplicación del frío a los alimentos*. Editor: M. Lamúa. Editorial: Mundi Prensa. Cap. 5. p.p. 127-141.
- Artés-Hernández, F., Escalona, V. H., Robles, P., A., Martínez-Hernández, G., Artés, F.,** (2008). Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 414–421.
- Ávila, I.M.L.B., Silva, C.L.M.,** (1999). Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. *Journal of Food Engineering*, 39: 161–166.
- Babic, I., Watada A.E.,** (1996). Microbial populations of fresh-cut spinach leaves affected by controlled atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 187-193.
- Bartz, J. A., Showalter, R. K.,** (1981). Infiltration of tomatoes by bacteria, in aqueous suspension. *Phytopathology*, 71: 515-518.
- Beuchat, L. R., Adler, B. B. y Land, M. M.,** (2004). Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid sanitizers in killing *Listeria monocytogenes* on Iceberg and Romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. *Journal of Food Protection*, 67 (6), 1238-1242.
- Beuchat, L. R.,** (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes Infection*, 4: 413-423.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R.,** (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry. *Journal of Food Science and Agriculture*, 80: 637-645.
- Bracket R. E.,** (1987). Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10: 195-206.
- Brackett, R. E.,** (1987). Antimicrobial effect of chlorine on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 50, 999-1003.
- Brackett, R. E.,** (1994). Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. R. C. Wiley (Ed.). Chapter 7, pp. 269-312. Chapman & Hall, New York, London.
- Cantwell, M.I., Suslow, T.V.,** (2002). Postharvest handling systems: Fresh-cut fruits and vegetables. . In *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 3; Kader, A. A., Ed.; University of California, Division of Agriculture and Natural Resources: Los Angeles, CA, 2002; 3311, pp 445-463.
- Choi, S. W., Sapers, G. M.,** (1994). Effects of washing on polyphenols and polyphenoloxidase in commercial mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (10): 2286-2290.

- De Roever, C.,** (1998). Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control*, 9: 321 – 347.
- Gil M. I., Aguayo E., Kader A. A.,** (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4284 - 4296.
- Gorny, J. R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R. A., Kader, A. A.,** (2002). Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biology and Technology*, 24: 271-278.
- Janovitz-Klapp, A. H., Richard, F. C., Goupy, P. M.; Nicolas, J. J.,** (1990). Kinetic studies on apple polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 1437-1441.
- Kader, A. A., Zagory, D., Kerbel, E. L.,** (1989). Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(1): 1-30.
- Koseki, S., Isobe, S.,** (2006). Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Protection*, 69(1): 154-60.
- Laurila, E., Kervinen, R., Ahvenainen, R.,** (1998). The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. *Postharvest News and Information*, 9(4), 53.
- Linnaeus, C.,** (1753). *Species Plantarum*, Tomus II: 723.
- Luckey, T.D.,** (1980). *Hormesis with ionizing radiation*. CRC Press, Boca Raton Publisher, In Japanese Soft Science Inc., Tokyo.
- Mahataj, R., Arul, J., Nadeau, P.,** (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 13-23.
- Mayer, A., Harel, E.,** (1987). Polyphenoloxidase in plants - recent progress. *Phytochemistry* 26 11-20.
- Mercier, J., Arul, J., Julien, C.,** (1994). Effect of food preparation on the isocoumarin, 6-methoxymellein, content of UV-treated carrots. *Food Research International*, 27: 401-404.
- Mercier, J., Baka, M., Reddy, B., Corcuff, R., Arul, J.,** (2001). Shortwave Ultraviolet Irradiation for Control of Decay Caused by *Botrytis cinerea* in Bell Pepper: Induced Resistance and Germicidal Effects. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 126(1):128–133.
- Mondino, M. Ferrato, J.,** (2006). El análisis sensorial, una herramienta para la evaluación de la calidad desde el consumidor. *Revista cuatrimestral de la facultad de Ciencias Agrarias*.
- Nguyen-the, C., Carlin, F.,** (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruit and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 371-401.
- Nicolas, J., Richard-Forget, F., Goupy, P., Amiot, M.J., Aubert, S.,** (1994). Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 109–157.
- Porat, R., Daus, A., Weiss, B., Cohen, L., Fallik, E., Droby, S.,** (1999). Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 18: 151–157.

Richardson, S. D., Thruston, A. D., Caughran, T. V., Chen, P. H., Collette, T. W., Schenck, K. M., Lykins, B. W., Rav-Acha C., Glezer, V., (2000). Identification of New Drinking Water Disinfection by - Products from Ozone, Chlorine Dioxide, Chloramine, and Chlorine. *Water Air Soil Pollution*, 123: 95-102.

Sáenz, C., Sepúlveda, E., Araya, E., Calvo C., (1993). Colour changes in concentrated juices of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) during storage at different temperatures. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 26: 417-241.

Sánchez-Mata, M.C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., (2002). Extending shelf-life and nutritive value of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), by controlled atmosphere storage: micronutrients. *Food Chemistry*, 80: 317-322.

Sánchez-Torres, P., Tuset, J. J., (2010). Molecular insights into fungicide resistance in sensitive and resistant *Penicillium digitatum* strains infecting citrus. *Postharvest Biology and Technology* 59, 159–165.

Sapers, G.M., (1993). Browning of foods: control by sulfites, antioxidants and other means. *Food Technology*, 47 (10): 75-84.

Schwartz, S.J., von Elbe, J.H., (1983). Identification of betanin degradation products. *European Food Research and Technology*, 176: 448–453.

Sewell, A. M., Farber, J. M., (2001). Foodborne outbreaks in Canada linked to produce. *Journal of Food Protection*, 64: 1863-1877.

Sivapalasingam, S., Friedman, C. R., Cohen, L., Tauxe, R. V., (2004). Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *Journal of Food Protection*, 67: 2342-2353.

Tirilly, Y., Bourgeois, C. M., (2002). *Tecnología de las hortalizas*. Zaragoza: Acribia, S.A., 2002. ISBN: 84-200-0958-x.

Vámos-Vigyázó, L., (1981). Polyphenoloxidase and peroxidase in fruit and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15(1): 49-127.

Watada, A. E., Ko, N. P., Minott, D. A., (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 115-126.

Zhuang, R. Y., Beuchat, L. R., Angulo, F. J., (1995). Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. *Appl. Environmental Microbiology*, 61(6): 2127-31.