



Colletti, Analía Cecilia

Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de productos mínimamente procesados con vida útil extendida a base de frutas tratadas por tratamientos no térmicos



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina. Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 2.5 https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/

Documento descargado de RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes de la Universidad Nacional de Quilmes

Cita recomendada:

Colletti, A. C. (2024). Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de productos mínimamente procesados con vida útil extendida a base de frutas tratadas por tratamientos no térmicos. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. Disponible en RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/4606

Puede encontrar éste y otros documentos en: https://ridaa.unq.edu.ar



Analía Cecilia Colletti, Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto,
Agosto de 2024, pp. 222,
http://ridaa.unq.edu.ar,
Universidad Nacional de Quilmes, Secretaría de Posgrado,
Doctorado en Ciencia y Tecnología

Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de productos mínimamente procesados con vida útil extendida a base de frutas tratadas por tratamientos no térmicos

TESIS DOCTORAL

Analía Cecilia Colletti

analia colletti@yahoo.com.ar

Resumen

Actualmente, los consumidores demandan productos de conveniencia listos para su consumo que conserven sus características naturales, como las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, con un mínimo agregado de aditivos. Como tecnología no térmica, la irradiación gamma se presenta como una alternativa promisoria para su preservación, ya que, a diferencia de los procesos térmicos convencionales, no altera los pigmentos y componentes nutricionales y del flavor. Además, los procesos de irradiación a dosis adecuadas pueden mejorar las características texturales de las frutas, aumentando adicionalmente su capacidad antioxidante y disminuyendo la actividad de enzimas relevantes para los procesos de deterioro. El objetivo general de la presente tesis fue realizar aportes significativos científico-tecnológicos, que permitan entender mejor el efecto de la irradiación gamma en combinación con otras estrategias de barrera, como el envasado en atmósferas modificadas, sobre la calidad fisicoquímica, fisiológica y sensorial de duraznos mínimamente procesados.

Como primera estrategia, se determinó la necesidad de combinar la tecnología de irradiación gamma con un envasado con baja permeabilidad a los gases, para reducir el pardeamiento enzimático del producto y se definió el proceso de producción del mismo. Así, rodajas de durazno fueron sumergidas en solución de 20 ppm HCIO, para descontaminación superficial y luego en 1% (p/v) ácido ascórbico y 0,5% (p/v) ácido cítrico, para control del pardeamiento enzimático. Posteriormente, las rodajas fueron acondicionadas en bandejas plásticas y envasadas a presión atmosférica en bolsas constituidas por film "Cryovac BB2620" de baja permeabilidad a los gases (tasa de transmisión de O2 6–14 cm3/m2/24 h a 22–24 °C y a 0% HR, 1 atm). Luego las bandejas se colocaron en cajas de cartón y fueron tratadas a distintas

dosis de irradiación gamma en la Planta de Irradiación Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza. Se evaluó un periodo de almacenamiento de 14 días bajo refrigeración a 4 °C.

En un primer ensayo se utilizaron tres variedades de durazno cosechadas en EEA-INTA San Pedro, siendo procesadas y tratadas a dosis de 0,5 y 1,0 kGy, según lo recomendado en bibliografía. Se observó que el tratamiento de irradiación no influye sobre los parámetros cromáticos, pero sí impacta en la reducción inmediata de la firmeza.

Una vez comprobada la eficacia de la irradiación gamma como factor de preservación de duraznos mínimamente procesados, se optimizaron las condiciones del tratamiento para evaluar no sólo los parámetros cromáticos y de firmeza, sino también los aspectos sensoriales, bioquímicos y morfológicos, para comprender mejor el efecto de los tratamientos sobre la calidad del producto irradiado. La aplicación de una dosis de 1,0 kGy produjo una mínima alteración del color, aunque generó el ablandamiento de los tejidos, lo cual puede valorarse desde un punto de vista tecnológico, ya que permitiría cosechar a las frutas en un estadio más temprano de maduración. Esto ayudaría a prevenir el debilitamiento de la estructura del fruto y a disminuir la susceptibilidad al daño mecánico y al ataque de patógenos, reduciendo en consecuencia las pérdidas poscosecha. Sería interesante evaluar la aceptabilidad global de la fruta irradiada y cosechada en diferentes grados de madurez. Seguidamente se estudió la aptitud para este tipo de procesamiento de dos cultivares de durazno, determinándose la importancia de seleccionar aquellos con menor actividad de enzimas relacionadas con el desarrollo de pardeamiento y fermentaciones, con mayor capacidad antioxidante y con mejores características sensoriales, para obtener un producto de calidad óptima y vida útil extendida. Se destacó la importancia de estudiar más variedades, para identificar las más aptas para irradiar y expandir la oferta de productos. Por otra parte, se profundizó el conocimiento del efecto de distintas dosis de irradiación (0,1; 0,3; 1,0 y 2,5 kGy) utilizando una variedad de duraznos de uso industrial. Los resultados mostraron el efecto positivo de las dosis bajas (< 1,0 kGy), mientras que el tratamiento a 2,5 kGy indujo una reducción considerable en la firmeza y desarrollo acelerado del pardeamiento enzimático. Además, se evaluó la respuesta al estrés a estos tratamientos mediante la inducción de proteínas de estrés térmico (HSP), solo detectada para dosis de irradiación de 0,1 y 0,3 kGy, lo cual constituye un hallazgo relevante no reportado previamente en tejidos vegetales. Por lo tanto, dosis bajas de irradiación promovieron los mecanismos fisiológicos y bioquímicos de defensa de la fruta. Estos resultados sugirieron que los tratamientos de irradiación (hasta 1,0 kGy) en combinación con el envasado en atmósfera modificada (10% O2 y 15% CO2 a los 14 días de almacenamiento), podrían dar lugar a productos de alta calidad con una vida útil prolongada. El análisis de optimización arrojó como resultado 0,25 kGy, como dosis óptima para preservar los parámetros fisicoquímicos, por lo que se seleccionó este valor para el estudio posterior.

Finalmente, se concluye que la elección de la materia prima para el proceso es determinante de la calidad del producto final, por lo que se analizó la aptitud varietal. En este sentido, se correlacionaron variables instrumentales con sensoriales, y se determinó que, en el ensayo realizado, las muestras de cv. Dixiland irradiadas a 0,2 kGy podían mantener estables las propiedades de calidad fisicoquímicas y sensoriales, mientras se indujo la defensa fisiológica por el estrés generado. Finalmente, se validaron los resultados experimentales con los predichos optimizados.

Como conclusión, puede afirmarse que los duraznos irradiados mantienen su calidad y frescura, en función de sus características de apariencia, textura y flavor, y actividad de sus procesos metabólicos. Por lo tanto, la irradiación gamma constituye una tecnología promisoria para preservar duraznos mínimamente procesados, siendo necesario profundizar los conocimientos científico-tecnológicos que contribuyan a la ampliación en el mercado de productos ionizados. Sin dudas, el avance de las investigaciones y desarrollos futuros permitirán una difusión creciente de esta tecnología a nivel industrial, logrando la aceptación y producción de los alimentos irradiados a una mayor escala.





Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina

Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de productos mínimamente procesados con vida útil extendida a base de frutas tratadas por tratamientos no térmicos

Tesis doctoral Doctorado de la Universidad Nacional de Quilmes en Ciencia y Tecnología, 2024 Ing. Analía Cecilia Colletti

Director: Dr. Gustavo Alberto Polenta Co-directora: Dra. Gabriela Inés Denoya Consejera académica: Dra. Alfonsina Moavro





Doctorado de la Universidad Nacional de Quilmes en Ciencia y Tecnología

TESIS DE DOCTORADO

"Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de productos mínimamente procesados con vida útil extendida a base de frutas tratadas por tratamientos no térmicos"

Ing. ANALÍA CECILIA COLLETTI

Director: Dr. GUSTAVO ALBERTO POLENTA Co-Directora: Dra. GABRIELA INÉS DENOYA Consejera académica: Dra. ALFONSINA MOAVRO

Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes

Instituto Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación de Agroindustria,

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria







El presente trabajo final corresponde al proyecto de tesis para optar al título de Doctora de la Universidad Nacional de Quilmes en Ciencia y Tecnología.

El trabajo de investigación se desarrolló en el Instituto Tecnología de Alimentos perteneciente al Centro de Investigación de Agroindustria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicado en la localidad de Hurlingham, Provincia de Buenos Aires, Argentina, bajo la dirección del Dr. Gustavo Alberto Polenta y la codirección de la Dra. Gabriela Inés Denoya. El proyecto fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación, titulado: "Bases tecnológicas, bioquímicas y sensoriales para la obtención de un producto mínimamente procesado con vida útil extendida a base de duraznos y nectarinas tratados por Altas Presiones Hidrostáticas (APH)" (PICT 2016-0178), obteniendo una beca doctoral de nivel inicial. Además, se contó con financiamiento de un proyecto disciplinar INTA, titulado "Estrategias tecnológicas innovadoras para la transformación y preservación de alimentos" (2019-PD-E7-I153).

I. Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres, hermanos, sobrinos y amigos por el apoyo incondicional durante este tiempo de investigación, y hacer una mención especial a mi compañero de vida Lucas, por su amor día a día, y darme confianza en lo que siempre me propuse llevar a cabo. Las distancias y viajes entre mi domicilio e INTA Castelar, en ciertas ocasiones se hicieron un poco largas, pero fueron y seguirán siendo el motor para reflexionar durante el camino, que efectivamente encontré mi vocación, un hermoso y fructífero paso hacia la investigación, manteniendo activa la curiosidad que tenía de pequeña.

Quiero agradecer a la Educación Pública Argentina, y por sobre todo a la Universidad Nacional de Quilmes (UNQ) por permitirme estudiar durante más de diez años desde mi carrera de grado, y sentirla siempre una segunda casa.

Al Dr. Gustavo Polenta y Dra. Gabriela Denoya por darme la oportunidad y elegirme en la convocatoria para obtener la beca de doctorado. Además, me brindaron su tiempo y paciencia, me ayudaron todos estos años para que el trabajo saliera adelante, y me enseñan día a día desde su humildad y experiencia la forma óptima de trabajo y el trato cálido y amable hacia sus pares.

A la Dra. Alfonsina Moavro, por ser mi consejera académica y escucha constante y cálida para resolver cualquier tema relacionado al doctorado.

Al Área de Bioquímica y Nutrición del Instituto, en especial a su director Dr. Sergio Vaudagna y coordinadora Dra. Adriana Pazos por brindarme el espacio y sus recursos, y todos aquellos compañeros de trabajo dispuestos a darme una mano siempre que lo necesité.

Al Área de Procesamiento, Análisis físicos y sensoriales, y al Área de Contaminantes, en especial a sus coordinadores (Dra. Gabriela Denoya y Dr. Diego Cristos) por ofrecer sus instalaciones, equipamiento y recursos para realizar distintos ensayos experimentales.

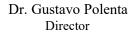
Agradecer a las Instituciones con las cuales realizamos ensayos en conjunto:

- Estación Experimental Agropecuaria INTA San Pedro.

- Gerencia Aplicaciones Tecnológicas Radiaciones, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Ezeiza.
- Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos aires (ISETA-CICPBA), 9 de Julio.
- Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales (CULTEV), Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján
- Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación.
- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires. (CONICET).

Gracias por el aporte de cada uno de ellos e incentivarme a seguir estudiando y perfeccionándome en algo tan lindo, como es la ciencia y tecnología de los alimentos.



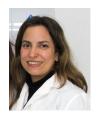




Dra. Gabriela Denoya Co-directora



Ing. Analía Colletti Tesista



Dra. Alfonsina Moavro Consejera académica



"La ciencia es una de las formas más elevada del quehacer espiritual pues está ligada a la actividad creadora del intelecto, forma suprema de nuestra condición humana"

(Dr. René Favaloro, 1923-2000)

II. PRESENTACIONES CIENTÍFICAS

Los resultados presentados están parcialmente incluidos en los trabajos que se detallan a continuación:

Colletti A., Denoya G., Vaudagna S., Polenta G. (2024). Novel Applications of Gamma Irradiation on Fruit Processing. *Current Food Science and Technology Reports*, 2, 55-64. https://doi.org/10.1007/s43555-024-00016-w

Pieroni V., Ottaviano F.G., Sosa M., Gabilondo J., Budde C., Colletti A., Denoya G., Polenta G., Bustamante C., Muller G., Pachado J., Andres S., Cardinal P., Rodriguez G., Garitta L. (2023). Effects of gamma irradiation on the sensory and metabolic profile of two peach cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(13), 6362-6372. https://doi.org/10.1002/jsfa.12712

Colletti A., Denoya G., Budde O., Gabilondo J., Pachado J., Vaudagna S., Polenta G. (2022). Induction of stress defense response and quality retention in minimally processed peaches through the application of gamma irradiation treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 194, 112084. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112084

Denoya G., Colletti A., Vaudagna S., Polenta G. (2021). Application of non-thermal technologies as a stress factor to increase the content of health-promoting compounds of minimally processed fruits and vegetables. *Current Opinion in Food Science*, 42: 224-236. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.06.008

Otras publicaciones afines o relacionadas:

Polenta G., Ambrosi V., Costabel L., Colletti A., Vaudagna S., Denoya G. (2023). 5. Strategies to improve enzyme performance: Effect of high pressure on the substrate and pressure-assisted reaction in B.L. Júnior and A. Tribst (Eds.), *Effect of High-Pressure Technologies on Enzymes. Science and Applications*. (1st ed.) Academic Press, ElSevier. ISBN: 9780323983860. https://www.elsevier.com/books/effect-of-high-pressure-technologies-on-enzymes/leite-junior/978-0-323-98386-0

Denoya G., Colletti A., Polenta G. (2020). Vegetales mínimamente procesados: frescos y saludables. *Revista Énfasis Alimentación n°10*, noviembre 2020, pp. 32-34. https://es.calameo.com/read/0013939420929b6575af4.

Los resultados presentados en esta tesis fueron parcialmente incluidos en las siguientes comunicaciones en formato resumen y póster a:

Congresos Científicos Internacionales

Colletti, Analia; Denoya, Gabriela; Budde Claudio; Gabilondo Julieta; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Efecto de Aplicación de tecnologías térmicas y no-térmicas en el contenido de ácidos orgánicos y azúcares de duraznos mínimamente procesados. VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTAC 2022). 4 al 6 de octubre de 2022. Córdoba, Argentina. Formato presencial.

Colletti, Analia. Tendencias, oportunidades e impacto social en la producción y consumo de alimentos de Latinoamérica del siglo XXI. XXXIII Congreso Latinoamericano de Sociología, organizado por la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, Universidad Nacional Autónoma de México. 14 al 19 de agosto de 2022. Ciudad de México, México. Formato virtual.

Colletti, Analía. Application of Gamma Irradiation on Minimally Processed Fruits and Vegetables. The 1st International Joint Symposium on Agriculture and Food Security, organizado por School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University. 2 de agosto de 2021. Chaing Rai, Thailand. Formato virtual.

Colletti, Analia; Denoya, Gabriela; Budde Claudio; Gabilondo Julieta; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Efecto de la aplicación de irradiación gamma, ultrasonido y tratamiento térmico en la calidad de duraznos mínimamente procesados. 3er. Congreso Iberoamericano de Ingeniería de los Alimentos. Avances y desafíos de la Ingeniería de Alimentos: hacia una alimentación saludable, segura y sustentable, organizado por la Asociación de Ingenieros Alimentarios del Uruguay (AIALU). 18 al 20 noviembre de 2020. Montevideo, Uruguay. Formato virtual. Libro de resúmenes ISBN: 978-9974-8562-1-9. pp. 89-90.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Horak, Celina; Pachado, Jose; Lires, Carla; Garitta, Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Evaluación de la Capacidad Antioxidante en Duraznos Mínimamente Procesados tratados por Irradiación Gamma. XVII Congreso CyTAL (Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019 y XXI Congreso ALACCTA (Asociación Latinoamericana y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019. 20 al 22 de noviembre de 2019. Buenos Aires, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-22165-9-7, pp. 833-834.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Horak, Celina; Pachado, Jose; Lires, Carla; Garitta, Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Efecto de la Aplicación de Distintas Dosis de Irradiación Gamma en Duraznos Mínimamente Procesados Envasados. XVII Congreso CyTAL (Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019 y XXI Congreso ALACCTA (Asociación Latinoamericana y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019. 20 al 22 de noviembre de 2019. Buenos Aires, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-22165-9-7, pp. 112-113.

Garitta, Lorena; Pieroni, Victoria; Gugole, Fernanda; Sosa, Miriam; Colletti, Analía; Budde, Claudio, Gabilondo, Julieta; Valentini, Gabriel; Polenta, Gustavo. Cambios de Sabor y Textura en Duraznos Enteros a lo largo de su Maduración en el Tiempo. XVII Congreso CyTAL (Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019 y XXI Congreso ALACCTA (Asociación Latinoamericana y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019. 20 al 22 de noviembre de 2019. Buenos Aires, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-22165-9-7, pp. 541-542.

Congresos Científicos Nacionales

Colletti, A; Denoya, G; Budde, C; Polenta, G; Vaudagna, S. Aplicación de técnicas de machine learning para clasificar duraznos mínimamente procesados en función de parámetros de calidad. IV Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha.

Universidad Nacional de La Plata. 30 de agosto al 1 de septiembre de 2023. La Plata, Buenos Aires. Formato presencial. *Revista Investigación Joven*, 10(2), p. 191. ISSN: 2314-3991.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Pachado, Jose; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Evaluación de proteínas de estrés de bajo peso molecular inducidas en duraznos mínimamente procesados tratados por irradiación gamma. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral (UNL). 26 al 30 de julio de 2021. Rosario, Santa Fé. Formato virtual. ISBN: 978-987-88-1963-1, p. 110.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Pachado, Jose; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Análisis de isoenzimas de polifenoloxidasas y peroxidasas en duraznos mínimamente procesados tratados por irradiación gamma para prevenir el pardeamiento enzimático. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral (UNL). 26 al 30 de julio de 2021. Rosario, Santa Fé. Formato virtual. ISBN: 978-987-88-1963-1, p. 111.

Pieroni, Victoria; Gugole, Fernanda; Garitta, Lorena; Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Polenta, Gustavo. Efecto de la irradiación gamma sobre el perfil sensorial y metabólico en duraznos mínimamente procesados. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral (UNL). 26 al 30 de julio de 2021. Rosario, Santa Fé. Formato virtual. ISBN: 978-987-88-1963-1, p. 133.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Sergio, Vaudagna; Polenta, Gustavo. Aplicación de irradiación gamma como factor de estrés para incrementar los compuestos antioxidantes en frutas y hortalizas. IV Jornadas de Investigadores en Formación CyT. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. 25 al 27 marzo de 2021. Bernal, Argentina. Formato virtual. ISSN 2718-8663, p. 115.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Horak, Celina; Garitta, Lorena; Polenta, Gustavo. Evaluación de la Irradiación Gamma como método de conservación de Frutas Mínimamente Procesadas: Generando información para fomentar el consumo de productos irradiados. 1er. Congreso Nacional de Alimentos – ANMAT: Caminos y Desafíos en Alimentos, Salud y Comunidad. 2 al 3 de diciembre de 2019. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Formato presencial. E-Poster disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat poster colletti analia.pdf

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Horak, Celina; Pachado, Jose; Lires, Carla; Garitta, Lorena; Pieroni, Victoria; Gugole, Fernanda; Sosa, Miriam; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Aplicación de Irradiación Gamma en Duraznos Mínimamente Procesados para mejorar la Textura y Calidad Sensorial, y prevenir el Desarrollo Fúngico. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. 11 al 13 de septiembre de 2019. Santiago del Estero, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-1676-88-0, p. 91.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Horak, Celina; Pachado, Jose; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Aspectos Bioquímicos de la Aplicación de Tratamientos de Irradiación en Duraznos Mínimamente Procesados. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. 11 al 13 de septiembre de 2019. Santiago del Estero, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-1676-88-0, p. 92.

Colletti, Analía; Denoya, Gabriela; Budde, Claudio; Gabilondo, Julieta; Horak, Celina; Pachado, Jose; Vaudagna, Sergio; Polenta, Gustavo. Efecto de Distintos Sistemas de Corte sobre la Vida Útil de Duraznos Mínimamente Procesados. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. 11 al 13 de septiembre de 2019. Santiago del Estero, Argentina. Formato presencial. ISBN: 978-987-1676-88-0, p. 90.

Comunicación oral a través de seminarios, charlas y conferencias

Colletti, Analia. Aplicación de técnicas de machine learning para clasificar duraznos mínimamente procesados en función de parámetros de calidad. IV Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Universidad Nacional de La Plata. 30 de agosto al 1 de septiembre de 2023. La Plata, Buenos Aires. Formato presencial.

Colletti, Analía. La Carrera después de la Carrera, Capítulo 5: Ingenieras en alimentos. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. 16 de diciembre de 2022. Disponible en: https://www.youtube.com/watch?v=Mx8mWmfnmtI.

Colletti, Analía. Efecto de Aplicación de tecnologías térmicas y no-térmicas en el contenido de ácidos orgánicos y azúcares de duraznos mínimamente procesados. VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTAC 2022). 4 al 6 de octubre de 2022. Córdoba, Argentina. Formato presencial.

Colletti, Analía. Tendencias, oportunidades e impacto social en la producción y consumo de alimentos de Latinoamérica del siglo XXI. XXXIII Congreso Latinoamericano de Sociología, organizado por la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, Universidad Nacional Autónoma de México. 14 al 19 de agosto de 2022. Ciudad de México, México. Formato virtual.

Colletti, Analía. Tecnologías de irradiación de alimentos y su aplicación en frutas mínimamente procesadas para extender su vida útil. Seminario de doctorado organizado por el Departamento de Sanidad, Nutrición, Bromatología y Toxicología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. 16 de mayo de 2022. Formato virtual.

Colletti, Analía. Application of Gamma Irradiation on Minimally Processed Fruits and Vegetables. The 1st International Joint Symposium on Agriculture and Food Security, organizado por School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University. 2 de agosto de 2021. Chaing Rai, Thailand. Formato virtual.

Denoya, Gabriela y Colletti, Analía. Frutas y Hortalizas mínimamente procesadas: Aplicación de altas presiones hidrostáticas e irradiación gamma como métodos no térmicos de preservación. Disertación en simposio Ciencia y Tecnología de los Alimentos. IV Jornadas de Investigadores en Formación CyT. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. 25 al 27 marzo de 2021. Bernal,

Argentina. Formato virtual.

Colletti, Analía. Aplicación de Irradiación Gamma en Duraznos Mínimamente Procesados para Mejorar la Calidad y Extender la Vida Útil. V Jornadas Técnicas de Actualización Instituto de Tecnología de Alimentos ITA-INTA. 28 al 29 de noviembre de 2019. Hurlingham, Buenos Aires.

Colletti, Analia. Aplicación de Irradiación Gamma en Duraznos Mínimamente Procesados para mejorar la Textura y Calidad Sensorial, y prevenir el Desarrollo Fúngico. II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. 11 al 13 de septiembre de 2019. Santiago del Estero, Argentina. Formato presencial.

III. ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

°C	Grados Centígrados	
¹³⁷ Cs	Cesio-137	
¹⁴ C	Carbono-14	
1-MCP	1-metilciclopropeno	
⁶⁰ Co	Cobalto-60	
A	Absorbancia	
a*	Parámetro que representa cromaticidad del verde al rojo	
ABTS	2,2-Azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid	
ADH	Alcohol deshidrogenasa	
ADN	Ácido desoxirribonucleico	
ADP	Adenosina-5'-difosfato	
AG	Ácido gálico	
ALATI	Asociación Latinoamericana de Tecnología de la Irradiación	
Al-DH	Aldehído deshidrogenasa	
AMA	Acetato de amonio	
ANMAT	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica	
ANOVA	Análisis de Varianza	
APH	Altas Presiones Hidrostáticas	
Aq.	Acuosa	
ARN	Ácido ribonucleico	
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero	
atm	Atmósferas	
ATP	Adenosina-5'-trifosfato	
b*	Parámetro que indica cromaticidad del azul al amarillo	
BCIP	5-bromo-4-chloro-3- indolyil fosfato	
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas	
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura	
BSTT	Buffer salino Tris Tween	
C*	Parámetro chroma que indica la saturación o intensidad del color	
CAA	Código Alimentario Argentino	

CAE	Centro Atómico Ezeiza	
CEFOBI	Centro de estudios Fotosintéticos y Bioquímicos	
CFC	Clorofluorocarbonos	
СН₃ОН	Metanol	
CIA	Centro de Investigación de Agroindustria	
cm	Centímetros	
CNEA	Comisión Nacional de Energía Atómica	
CONAL	Comisión Nacional de Alimentos	
CONICET	Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas	
CULTEV	Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales	
cv.	cultivar	
D	Desirability	
D_{10}	Dosis de reducción decimal	
DDT	Dicloro difenil tricloroetano	
DHAA	Ácido dehidroascórbico	
D _{máx}	Dosis máxima	
D _{mín}	Dosis mínima	
DPPH	1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl	
ε	Coeficiente de extinción molar	
EC	Comisión de enzimas	
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético	
EEA	Estación Experimental Agropecuaria	
Ej.	Ejemplo	
ETAs	Enfermedades transmitidas por alimentos	
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura	
fda	Fluoresceín diacetato	
FDA	Food and Drug Administration	
FeCl ₃ .6H ₂ O	Cloruro férrico hexahidratado	
Fig.	Figura	
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power	
FT-NIR	Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano por transformada de Fourier	
FyHMP	Frutas y hortalizas mínimamente procesadas	

g	Gramos	
g	Fuerza centrífuga relativa	
GAPA	Guías Alimentarias para la Población Argentina	
GLM	General Linear Model	
Gy	Gray	
h	Hora	
h°	Parámetro cromático que representa el tono o ángulo de color	
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno	
H ₂ O _d	Agua destilada	
H_2S	Sulfuro de hidrógeno	
HACCP	Análisis de peligros y puntos críticos de control	
HC1	Ácido clorhídrico	
HClO	Ácido hipocloroso	
HClO ₄	Ácido perclórico	
HK	Hexoquinasa	
HPLC/MS	Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas	
HPO ₃	Ácido metafosfórico	
HR	Humedad relativa	
HSP	Heat shock proteins o proteínas de estrés térmico	
IAEA	International Atomic Energy Agency u Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA)	
IDR	Instituto de Desarrollo Rural de Mendoza	
INDEC	Instituto Nacional de Estadística y Censos	
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria	
IoT	Internet of things	
IRAM	Instituto Argentino de Normalización y Certificación	
ISETA	Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria	
ISO	International Organization for Standardization	
ITA	Instituto Tecnología de Alimentos	
J	Joule	
JECFI	Comité de Expertos en Irradiación de Alimentos	
kcal	Kilocalorías	
kDa	Kilodalton	

kg	Kilogramos		
kGy	Kilogray		
kJ	Kilojoule		
KPO ₄ H ₂	Fosfato diácido de potasio		
1	Litros		
L*	Parámetro cromático que representa "Luminosidad"		
LSD	Mínima diferencia significativa (Least Significant Difference)		
μg	Microgramos		
μl	Microlitros		
μΜ	Micromolar		
M	Molar		
m	Metros		
mA	Miliamper		
MAP	Modified atmosphere packaging		
MCBA	Mercado Central de Buenos Aires		
MCi	Megacuries		
MeBr	Bromuro de Metilo		
MeV	Mega electrón voltios		
mg	Miligramos		
min	Minutos		
ml	Mililitros		
mM	Milimolar		
mm	Milímetros		
mSv	Milisievert		
N	Newtons		
N_2	Nitrógeno molecular		
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio		
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido		
NBT	Nitroblue tetrazolium chloride		
NH ₃	Amoníaco		
nm	Nanómetros		
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos		

OMS	Organización Mundial de la Salud	
ONU	Organización de las Naciones Unidas	
P	Presión	
p/v	Peso en volumen	
PAL	Fenilalanin amonio-liasa	
PCB	Policloruro de bifenilo	
PCC	Punto crítico de control	
PET	Tereftalato de polietileno	
PG	Poligalacturonasa	
PGI	Fosfoglucosa isomerasa	
PISI	Planta de Irradiación Semi-Industrial	
PLS	Partial least squares regression	
PM	Peso molecular	
PME	Pectinmetilesterasa	
PMMA	Metacrilato de polimetilmetacrilato	
PMSF	Fluoruro de fenilmetanosulfonilo	
POD	Peroxidasa	
ppm	Partes por millón	
PPO	Polifenoloxidasa	
PVC	Policloruro de vinilo	
PVPP	Polivinilpolipirrolidona	
r	Coeficiente de Pearson	
RAD	Radiation Absorbed Dose	
ROS	Especies reactivas del oxígeno	
rpm	Revoluciones por minuto	
RT-PCR	Transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa	
S	Segundos	
SDS	Dodecilsulfato sódico	
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecilsulfato sódico	
SENASA	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria	
sHSP	Small heat shock proteins o proteínas de estrés térmico de bajo peso molecular	
SI	Sistema Internacional de Unidades	

Sv	Sievert
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
ton	Toneladas
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina
TRIS	Hidroximetilaminometano
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
U	Unidad de enzima
UE	Unión Europea
UFC	Unidad formadora de colonias
UNQ	Universidad Nacional de Quilmes
UV	Ultravioleta
V	Voltios
v/v	Volumen en volumen
VIP	Variable de importancia en la proyección

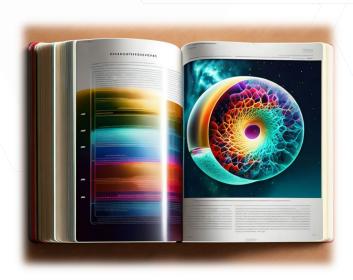
IV. ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ASPECTOS PRODUCTIVOS Y COMERCIALES DEL DURAZNO	1
1.1.1. Descripción y composición nutricional	1
1.1.2. Calidad Poscosecha	3
1.1.3. Producción	5
1.1.4. Tendencias productivas, comerciales y de consumo	7
1.2. IMPORTANCIA DE LAS FRUTAS Y HORTALIZAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS (FYHMP)	9
1.3. Prevención de alteraciones en FyHMP: Caso del pardeamiento enzimático	
1.4. DEFENSA FISIOLÓGICA VEGETAL ANTE TRATAMIENTOS DE ESTRÉS	12
1.4.1. Generalidades	
1.4.2. Proteínas de estrés térmico (HSP)	
1.4.3. Aspectos tecnológicos y usos prácticos de las HSP	
1.5. Tecnologías de preservación no térmicas	
1.6. LA IRRADIACIÓN DE ALIMENTOS COMO TECNOLOGÍA DE PRESERVACIÓN	
1.6.1. Definición	
1.6.2. Reseña histórica, aspectos legales y de seguridad de la irradiación de alimentos	
. , 3 , 3	
1.6.3. Contexto mundial y contexto argentino	
1.6.4. Fuentes de radiación permitidas e Instalaciones	
1.6.5. Dosimetría	33
1.6.6. Efectos de la irradiación sobre el agua, los microorganismos y los componentes de los	
alimentos	
1.6.6.1. Generalidades	
1.6.6.2. Radiólisis del agua	
1.6.6.3. Efecto de la irradiación sobre los microorganismos	
1.6.6.5. Efecto de la irradiación sobre los hidratos de carbono	
1.6.6.6. Efecto de la irradiación sobre los lípidos	
1.6.6.7. Efecto de la irradiación sobre las vitaminas	
1.6.7. Campos de aplicación	
1.6.7.1. Desinfección y preservación	
1.6.7.2. Control de insectos y plagas	
1.6.7.3. Retraso de la maduración	
1.6.7.4. Reducción de las pérdidas poscosecha	44
1.6.7.5. Mejora en la calidad de FyHMP	45
1.6.7.6. Cumplimiento de la normativa fitosanitaria	
1.6.8. Limitaciones y proyección futura sobre el uso de irradiación	45
2. OBJETIVOS	48
2.1. Objetivo general	48
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
3. MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1. Materia prima y procesamiento	[1
3.1.1. Material vegetal	
3.1.2. Procesamiento mínimo	
3.1.3. Tratamiento de irradiación gamma	
3.1.4. Almacenamiento	
3.2. Ensayos realizados	56

3.2.1. Ensayo preliminar. Diseño y puesta a punto de un sistema experimental para eva	luar la
aplicación de irradiación gamma en duraznos mínimamente procesados	57
3.2.1.1. Material vegetal	57
3.2.1.2. Determinaciones realizadas	
3.2.1.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental	57
3.2.2. Capítulo 1: Efecto de la aplicación de irradiación gamma y envasado en atmósfer	ras
controladas sobre aspectos morfológicos y fisicoquímicos de duraznos mínimamente p	rocesados.58
3.2.2.1. Material vegetal	58
3.2.2.2. Determinaciones realizadas	
3.2.2.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental	
3.2.3. Capítulo 2: Optimización del tratamiento de irradiación gamma para la preserva	
duraznos mínimamente procesados. Evaluación fisiológica de la protección por estrés	
3.2.3.1. Material vegetal	
3.2.3.2. Determinaciones realizadas	
3.2.3.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental	
3.2.4. Capítulo 3: Determinación de la aptitud varietal para el procesamiento de duraz	-
efecto sobre la calidad del producto final	
3.2.4.1. Material vegetal	
3.2.4.2. Determinaciones realizadas	
3.2.4.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental	
3.3. MÉTODOS	
3.3.1. Composición gaseosa	
3.3.2. Parámetros cromáticos	
3.3.3. Firmeza	63
3.3.4. Análisis sensorial	64
3.3.4.1. Entrenamiento	64
3.3.4.2. Sesiones de análisis sensorial	
3.3.5. Micrografía óptica	67
3.3.5.1. Microscopía de campo claro	
3.3.5.2. Microscopía de fluorescencia	
3.3.6. Actividad de enzimas	
3.3.6.1. Actividad enzimática PPO, POD y ADH en solución	
3.3.6.1.1. Extracción de proteínas	
3.3.6.1.2. Determinación de la actividad enzimática PPO	
3.3.6.1.3. Determinación de la actividad enzimática POD	
3.3.6.1.4. Determinación de la actividad enzimática ADH	
3.3.6.2. Detección de la actividad de las isoenzimas PPO y POD	
3.3.6.2.1. Extracción de proteínas	
3.3.7. Concentración de etanol	
3.3.8. Capacidad antioxidante	
3.3.8.1. Fenoles totales	
3.3.8.2. FRAP	
3.3.8.3. DPPH	
3.3.8.4. ABTS	_
3.3.9. Ácidos orgánicos	_
3.3.9.1. Extracción	
3.3.9.2. Determinación	
3.3.10. Azúcares	
3.3.10.1. Extracción	
3.3.10.2. Determinación	
3.3.11. Proteínas de estrés	78
3.3.11.1. Extracción de proteínas	
3.3.11.2. Análisis electroforético	
3.3.11.3. Inmunotransferencia	
2 2 12 Análisis de imágenes	70

3.3.13. Análisis estadístico	80
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	81
4.1. Ensayo preliminar. Diseño y puesta a punto de un sistema experimental para evalua	R LA APLICACIÓN DE
IRRADIACIÓN GAMMA EN DURAZNOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS	81
4.1.1. Objetivos específicos	81
4.1.2. Resultados	81
4.1.3. Discusión	85
4.1.4. Conclusiones	88
4.2. CAPÍTULO 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE IRRADIACIÓN GAMMA Y ENVASADO EN ATMÓSFERA	S MODIFICADAS SOBRE
ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y FISICOQUÍMICOS DE DURAZNOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS	89
4.2.1. Objetivos específicos	89
4.2.2. Resultados	89
4.2.3. Discusión	103
4.2.4. Conclusiones	111
4.3. CAPÍTULO 2: OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO DE IRRADIACIÓN GAMMA PARA LA PRESERVACIO	ÓN DE DURAZNOS
MÍNIMAMENTE PROCESADOS. EVALUACIÓN FISIOLÓGICA DE LA PROTECCIÓN POR ESTRÉS	113
4.3.1. Objetivos específicos	113
4.3.2. Resultados	113
4.3.3. Discusión	127
4.3.4. Conclusiones	130
4.4. CAPÍTULO 3: DETERMINACIÓN DE LA APTITUD VARIETAL PARA EL PROCESAMIENTO DE DURAZNO	OS Y SU EFECTO SOBRE
LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL	131
4.4.1. Objetivos específicos	131
4.4.2. Resultados	131
4.4.3. Discusión	155
4.4.4. Conclusiones	163
. CONCLUSIONES GENERALES	164
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169

1. INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aspectos productivos y comerciales del durazno

1.1.1. Descripción y composición nutricional

El duraznero [*Prunus persica* (L.) Batsch] es un frutal caducifolio, perteneciente al género *Prunus* de la familia Rosaceae (Castro & Puentes, 2012). Posee unas decorativas flores rosadas y una fruta (drupa) dulce y jugosa, muy apreciada mundialmente como alimento debido a su *flavor*, valor nutritivo, textura y apariencia. El durazno está categorizado como una "fruta de carozo", dado que su semilla está encerrada en un endocarpio duro. Es originario de China, posteriormente introducido en Persia, y luego distribuido por los romanos en Europa, siendo los españoles los responsables de la introducción de muchas variedades en América. Actualmente, se cultiva en casi todos los países del mundo (Dansa, 2017).

El durazno presenta un comportamiento climatérico (Africano *et al.*, 2015), siendo el etileno, mediante su función hormonal, el responsable de regular los principales procesos moleculares, bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de la fruta, incluyendo el incremento en la intensidad respiratoria, el contenido de sólidos solubles totales (Akbudak & Eris, 2004), los cambios de color a nivel de epidermis y pulpa, la disminución de la acidez total titulable, y la resistencia o firmeza de la pulpa (Altube *et al.*, 2001). El etileno también es responsable de acelerar la senescencia, por lo que su concentración en la fruta afecta directamente la calidad (Ramírez, 2007). Sin embargo, es importante mencionar que, como en la gran mayoría de las frutas, existe una gran variabilidad en las características, de forma tal que parámetros como la firmeza y el contenido de sólidos solubles están muy asociados a la variedad, y a su vez, se encuentran influenciadas por la temporada, la ubicación y la fecha de recolección (Ruiz-Altisent *et al.*, 2006). Por su parte, la calidad y la madurez de consumo dependen de cambios a nivel organoléptico, como el desarrollo del *flavor* (Taín *et al.*, 2011).

Durante la maduración, el durazno revela un cambio en el color de fondo de la epidermis, el cual presenta una evolución de verde a rojo por la degradación de clorofilas, mientras que el color de recubrimiento presenta un cambio de tonalidades amarillo verdoso a rojo, generalmente en respuesta a la acumulación de carotenoides y antocianinas (Cunha *et al.*, 2007). El contenido de ácidos orgánicos en el durazno disminuye a medida que la fruta madura (Rodríguez-Félix *et al.*, 2011). Durante esta etapa, también se llevan a cabo

distintos procesos de síntesis de compuestos volátiles, reducción del contenido de proteínas e incremento en la capacidad antioxidante de la fruta (D'Ambrosio *et al.*, 2012).

Comercialmente, el durazno se clasifica en dos tipos: pavía (el carozo se mantiene adherido a la pulpa) o prisco (el carozo está relativamente separado de la pulpa). Debido a su valiosa composición nutricional, el durazno era considerado por los antiguos chinos como un símbolo de larga vida e inmortalidad (Siddiq, 2006). Una fruta media pesa aproximadamente 75 g y aporta 39 Kcal, 9 g de carbohidratos, 1 g de proteína, 7 mg de vitamina C y 190 µg de potasio cada 100 gramos de durazno fresco (Matei *et al.*, 2013). Sin embargo, estos valores varían de acuerdo a la variedad, región de cultivo, estado de madurez, y factores climáticos y agroecológicos (Tabla 1).

Una característica importante del durazno es su alto contenido en carotenoides (provitamina A), compuestos fenólicos y otros antioxidantes (Tareen et al., 2012). Los principales compuestos fenólicos son la catequina, la epicatequina, los ácidos cloragénico y neocloragénico, y los derivados de cianidina y quercetina, mientras que los principales carotenoides incluyen α -, β - y γ -carotenos y xantófilas (carotenoides mono- o dihidroxilados), zeaxantina, luteína, β-criptoxantina y violaxantina. En la actualidad, existe un gran interés de los consumidores por los compuestos antioxidantes, ya que su presencia en la dieta tiende a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y la incidencia de diferentes tipos de cáncer. Algunos compuestos carotenoides juegan un importante rol en la visión, entre ellos la luteína y la zeaxantina, los cuales presentan una capacidad demostrada para prevenir la degeneración de la mácula (Campbell & Padilla, 2013). Aunque los duraznos tienen menor contenido de estos compuestos que otras frutas tales como las frutillas, kiwis, manzanas y naranjas, los mismos tienen una gran importancia económica y nutricional, dado que su presencia es frecuente en las comidas durante los meses de primavera y verano, además de que las porciones son generalmente mayores (masa ingerida por persona y por día) en relación a otras frutas (Remorini et al., 2008).

En cuanto al consumo, un trabajo realizado por el Ministerio de Hacienda en el año 2016 muestra que los países latinoamericanos tienen los mayores niveles de consumo per cápita; para Argentina se estima un consumo anual del orden de 1,03 kg/año. Por otra parte, un estudio del Instituto de Desarrollo Rural de Mendoza (IDR) del año 2017 afirma que existe una marcada estacionalidad en el consumo de duraznos enlatados, con un fuerte aumento en los meses de verano y dos máximos identificados en los meses de octubre

(quizás relacionado a políticas de oferta previas a la nueva temporada) y diciembre, en coincidencia con las fiestas de fin de año.

Tabla 1: Valor nutricional del durazno (Boletín de Frutas y Hortalizas, Mercado Central de Buenos Aires, 2018, fuente: *USDA National Nutrient Database*).

Nutriente	Aportes de nutrientes cada 100 g de durazno frescos amarillos	Requerimientos diarios hombre/mujer en estado activo
Agua (g)	88,87	-
Lípidos (g)	0,25	-
Carbohidratos (g)	9,54	-
Energía (Kcal)	39	3000/2300
Proteína (g)	0,91	54/41
Calcio (mg)	6	1000
Hierro (mg)	0,25	10/18
Magnesio (mg)	9	350/330
Fósforo (mg)	20	700
Tiamina (mg)	0,024	1,2/0,9
Potasio (mg)	190	3500
Niasina (mg)	0,8	20/15
Vitamina B6 (mg)	0,025	1,8/1,6
Folato (mg)	4	400
Vitamina C (mg)	6,6	60
Vitamina A (UI)	326	3333/2666

1.1.2. Calidad Poscosecha

En Argentina, la cosecha de duraznos se realiza entre los meses de octubre y abril. El rango varía según las condiciones climáticas de cada año y al lugar geográfico (Fig. 1).

En la mayor parte de los cultivares, el momento óptimo de cosecha se determina por cambios en el color de fondo de la piel, de verde a amarillo. En cambio, en los cultivares en los cuales ese color de fondo se encuentra enmascarado por el desarrollo completo de un color rojo antes de la maduración, se recomienda medir la firmeza de la fruta para determinar cuándo cosecharla. La madurez óptima corresponde a una firmeza de pulpa en la que la fruta se puede manipular sin daños por magullamiento, y se mide con un penetrómetro con punta de 8 mm de diámetro (5/16"). La susceptibilidad al magullamiento varía entre cultivares. Además, la calidad de la fruta está también asociada

a parámetros, como el peso, los sólidos solubles, la acidez titulable, el color de la pulpa y otros atributos generales de calidad (ejemplos: daños por golpes, enfermedades, estado del carozo –partido o no–, sub- o sobremaduración, harinosidad visual, características del color). Es necesario destacar que la firmeza de cosecha no es la misma que la firmeza de consumo, debido al tiempo que transcurre entre la cosecha en la zona de producción y la llegada al consumidor, considerando los sistemas logísticos y las condiciones de proceso, almacenamiento y empaque, que se emplean durante la cadena (Budde *et al.*, 2003).

En lo relativo a los duraznos destinados a la industrialización, uno de los principales parámetros de calidad es el calibre (determinado por la circunferencia y el diámetro máximo de la sección ecuatorial). La fruta de mayor tamaño se emplea para la industria de mitades, recibiendo el mejor precio, mientras que la de menor tamaño es empleada por la industria pulpera (Boletín de Frutas y Hortalizas, MCBA, 2019).

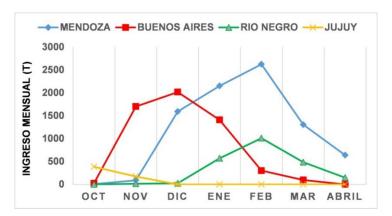


Fig. 1: Períodos de cosecha de duraznos según el lugar geográfico del país. Fuente: Ojer (2019).

A continuación, se detallan las variables y sus rangos sugeridos para optimizar las condiciones de conservación de duraznos:

- Temperatura óptima: La temperatura óptima de almacenamiento del durazno es de -1 a 0 °C. El punto de congelamiento varía, dependiendo del contenido de sólidos solubles, de -3 a -2,5 °C.
- Humedad relativa óptima: La humedad relativa (HR) óptima es de 90-95%; se recomienda un caudal de aire de aproximadamente 1,4 m³/min en las cámaras de almacenamiento.
- Respuestas a atmósferas modificadas/controladas: Los beneficios principales de atmosferas modificadas/controladas durante el almacenamiento y embalaje son la conservación de la firmeza y del color de fondo de fruta.

En el caso de las frutas mínimamente procesadas, se pueden utilizar sistemas de *packaging* con atmósferas modificadas *(Modified atmosphere packaging* – MAP) con niveles entre 2–5% de O₂ y 8–12% CO₂ para extender la vida útil (Kader & Rolle, 2004). Incluso, el uso de atmosferas modificadas es capaz de reducir la incidencia de podredumbres en rodajas de durazno (Gorny, 2001).

Prácticas Poscosecha: El durazno es una fruta altamente perecedera, que presenta una reducida vida útil en poscosecha generando pérdidas de entre el 15 y el 25% de la producción. Esta condición está asociada a su alto porcentaje de agua (Herrera et al., 2006) y su elevada actividad metabólica, sumado a los daños mecánicos que se generan por un inadecuado transporte y almacenamiento (Seta & Moyano, 2007).

La calidad y la vida útil de los duraznos varían significativamente según la variedad a la cual pertenecen. En el Mercado Central de Buenos Aires (MCBA) se ofertan hasta 63 variedades diferentes de duraznos. Además de ser condicionada por la variedad, la vida útil del durazno también es afectada por diversos factores como, por ejemplo, el manejo de la temperatura, siendo el decaimiento interno la mayor limitante para su conservación por períodos más prolongados (Boletín de Frutas y Hortalizas, MCBA, 2019). Otro factor por considerar que influye sobre la variabilidad es la posición de la fruta en el árbol. La fruta de menor tamaño que ha crecido en la parte externa de la copa tiene una vida de poscosecha más larga que la fruta de tamaño mayor que ha crecido en una posición interna. Esto se debe a las diferentes condiciones (luz, temperatura, disponibilidad de nutrientes, humedad) en las diferentes posiciones del árbol durante el crecimiento de la fruta. Como este último ejemplo mencionado, todos los factores precosecha condicionan la calidad de la fruta y su vida poscosecha.

1.1.3. Producción

Analizando el contexto global de la producción de durazno, se observa que China lidera el mercado seguido por la Unión Europea, Turquía y Estados Unidos, mientras que Brasil y Argentina se disputan alternativamente las posiciones siguientes (Dansa, 2020), (Fig. 2). Por su parte, los consumidores más importantes son Estados Unidos, Alemania, España, Japón y Francia, quienes representan el 70% del consumo total mundial.

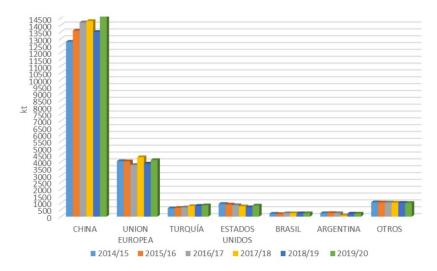


Fig. 2: Evolución de la Producción mundial de durazno durante el período 2014 - 2020 (Dansa, 2020).

En nuestro país, el Censo Nacional Agropecuario 2018 (llevado a cabo entre septiembre 2018 y marzo 2019, publicándose los resultados definitivos en abril de 2021) informó que Argentina cuenta con 19307,4 ha implantadas de durazneros y una producción aproximada de 200000 t, cifra que incluye variedades para consumo en fresco y para industria. Del total, el 52% se destina a la industrialización y el 48% al consumo fresco (INDEC, 2021). Durante el período de pandemia, los índices sufrieron modificaciones tendientes a la baja, sin embargo, los últimos datos públicos indican que durante la campaña 2022/2023 Argentina contó con 20985,4 ha implantadas, con una producción aproximada de 210000 t (SENASA, 2024).

Los usos principales del durazno son: para consumo en fresco, conservas, pulpas, mermeladas, jaleas, néctar, frutas desecadas, en almíbar, jugos, concentrados, entre otros.

Respecto a la producción de durazno para el consumo en fresco, la superficie implantada de este tipo de variedades se distribuye principalmente entre las provincias de Mendoza, Buenos Aires, Córdoba y Río Negro, representando alrededor del 90% del total nacional. En los últimos años, se han incorporado al panorama productivo algunas provincias del Noroeste y Noreste del país, las cuales se han concentrado en los cultivares tempranos, ampliando así la oferta temporal en el mercado interno (Boletín de Frutas y Hortalizas, MCBA, 2018). Del total productivo de durazno fresco, solo 1% se destina a exportación, siendo los principales destinos durante 2022/2023 Brasil, Paraguay, Bolivia y Estados Unidos, y en menor proporción Chile, Uruguay, España, Alemania, Reino Unido, Emiratos Árabes Unidos y Qatar. Además, se importó 383 t procedente de Chile y España (SENASA, 2024).

En relación a los duraznos con destino industria, la superficie implantada de las variedades para este fin se distribuye mayormente en la provincia de Mendoza (97%) y su producción tiene dos destinos principales: en promedio se destina el 75% de la cosecha (de duraznos industria) al enlatado en mitades, rodajas o cubeteado y el 25% restante a la elaboración de pulpa, cuando la fruta no reúne las características requeridas para elaborar conservas (Secretaría de Agroindustria, 2019). En nuestro país existen alrededor de 50 empresas que elaboran conservas de frutas, siendo aproximadamente un tercio de ellas de medianas a grandes. Algunas de las más importantes son: Agroindustrias Inca, Nieto y Cía., Industrias Alimenticias Mendocinas S.A., Arcor SAIC, La Campagnola, La Colina, Agroindustrias Molto S.A. y Alco-Canale. La mayor parte de las industrias elabora también otros productos, tales como derivados de tomate, dulces y mermeladas, muchos de ellos como línea principal. Sólo algunas empresas de menor dimensión están especializadas únicamente en la elaboración de conservas de frutas. El personal total ocupado en actividades de la cadena se estima que alcanza a 33000 personas, incluyendo la producción primaria, el empaque, y la industrialización de duraznos, ciruela, manzana y pera, por lo que la actividad representa una importante fuente de mano de obra.

En cuanto a la exportación durante el período 2022/2023, Argentina exportó el 2,6% de su producción como durazno desecado, deshidratado, congelado, y puré y pulpa de durazno a los siguientes países de destino: Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay, Estados Unidos, Alemania y Emiratos Árabes Unidos; mientras que importó 15 t de durazno desecado desde Bolivia (SENASA, 2024).

1.1.4. Tendencias productivas, comerciales y de consumo

Las tendencias en la cadena de valor de los alimentos se encuentran condicionadas principalmente por las exigencias de los consumidores. Actualmente, éstos últimos cambiaron su forma de valorizar los productos, con una mayor demanda de calidad, y buscando a su vez nuevos atributos. Así, existe una clara tendencia hacia el consumo de alimentos saludables, frescos y naturales, con el requerimiento del cuidado del ambiente y responsabilidad social en su producción.

En este sentido, alimentos que eran tradicionalmente bien aceptados, como el caso de los duraznos en conserva, son en la actualidad cuestionados desde el punto de vista nutricional, debido a la necesidad de agregarles durante su elaboración cantidades relativamente elevadas de azúcar en forma de jarabe. En consecuencia, el consumo de

estos productos puede elevar los niveles de glucosa postprandial en el plasma (alto índice glicémico del producto), lo cual ocasiona un efecto negativo para los consumidores en general, y especialmente para los diabéticos (Miller *et al.*, 1995). Este problema, sumado a la pérdida de compuestos de alto valor nutricional durante el procesamiento (que llega hasta el 60% en el caso de algunos nutrientes -Rickman *et al.*, 2007-), ha orientado la preferencia de los consumidores actuales hacia el reemplazo progresivo de los productos elaborados por métodos tradicionales de preservación, como las conservas, por productos frescos o listos para consumir con un mínimo procesamiento (Oke *et al.*, 2006).

Entre las estrategias de intervención propuestas por las autoridades sanitarias de nuestro país, y a través de la Dirección de Promoción de la Salud y Control de Enfermedades No Trasmisibles, se promueven entornos y prácticas cotidianas más saludables como las volcadas en las "Guías Alimentarias para la Población Argentina (GAPA)". El objetivo es lograr una alimentación más consciente y saludable, aumentar el consumo de frutas y hortalizas, no sólo en cantidad, sino en calidad, y de forma más homogénea por toda la población. Como contribución a este objetivo, durante el año 2017, se impulsó la Campaña de Promoción de Consumo de Frutas y Hortalizas, desarrollada por las Secretarías de Agregado de Valor y de Agricultura, Ganadería y Pesca del entonces Ministerio de Agroindustria de la Nación. Así, en la tercera semana de cada mes se realizaban acciones concretas, tanto en puntos específicos, como en redes sociales junto al *hashtag* #MásFrutasyVerduras (Fig. 3), (Ministerio de Agroindustria, 2017).

Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en idéntico sentido, recomienda un consumo diario de 400 g por día (mínimo de 5 porciones: 2 de frutas y 3 de hortalizas). Sin embargo, el consumo mundial de este tipo de productos está muy por debajo del nivel mínimo recomendado, estimándose que representa en la actualidad solo entre el 20–50% de la ingesta diaria sugerida. Existen evidencias que indican que la ingesta insuficiente de frutas y hortalizas está relacionada con el aumento del riesgo de cardiopatías isquémicas, cánceres gastrointestinales y accidentes vasculares cerebrales. Se estima en consecuencia que un mayor consumo de frutas y hortalizas hasta alcanzar los valores recomendados podría salvar hasta 1,7 millones de vidas cada año (FAO/OMS, 2004).



Fig. 3: Comunicación de la iniciativa "Campaña de Promoción de Consumo de Frutas y Hortalizas" (Ministerio de Agroindustria, 2017).

1.2. Importancia de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas (FyHMP)

Históricamente, las exportaciones nacionales han presentado como rasgo característico un limitado valor agregado debido al bajo nivel de transformación y de diferenciación de los productos. Se estima que menos del 20% de las exportaciones de productos de origen agropecuario incluyen algún grado de industrialización o diferenciación, predominando el comercio de productos del tipo *commodities*. Resulta entonces altamente estratégico para el país el agregado de valor a través del procesamiento de materias primas de origen agropecuario. A nivel de consumo, existe una demanda creciente de los denominados productos de conveniencia (listos para preparar, listos para consumir) con alta calidad sensorial y nutricional (Sabbadini, 2019).

Las frutas y hortalizas, en particular, son cada vez más apreciadas por parte de los consumidores, ya que, como fuera comentado, diversos estudios confirman la asociación entre su ingesta y el bajo riesgo de sufrir enfermedades crónicas. Los vegetales representan una rica fuente de nutrientes, que incluyen vitaminas, minerales, fibras y otras sustancias bioactivas cuyos mecanismos de acción son a menudo complejos, mostrando muchos de ellos un cierto nivel de superposición y/o complementariedad. Como ejemplo, se pueden mencionar: la modulación de enzimas de detoxificación, el estímulo del sistema inmunitario, la reducción de agregación plaquetaria, la modulación de la síntesis del colesterol y del metabolismo hormonal, la reducción de la presión sanguínea, y los efectos antibacterianos, antivirales y antioxidantes (Lampe, 1999).

Por otra parte, el ritmo de vida actual hace que se reduzca cada vez más el tiempo disponible para las preparaciones culinarias que incorporen un mayor porcentaje de frutas y hortalizas a la dieta. En consecuencia, la practicidad que ofrecen las frutas y hortalizas mínimamente procesadas (FyHMP) representa una oportunidad para que estos productos tengan una mayor inserción en el mercado nacional, y que puedan convertirse, como ya

acontece en muchos países desarrollados, en la principal fuente de nutrientes y de compuestos que contribuyan a prevenir enfermedades crónicas en un segmento importante de la población (Abadias *et al.*, 2008; Montero-Calderon *et al.*, 2009; Oms-Oliu *et al.*, 2010; Wiley, 1997).

Según el Código Alimentario Argentino (CAA), las frutas y hortalizas mínimamente procesadas son aquellas que se comercializan "frescas, limpias, peladas, enteras y/o cortadas de diferentes maneras, cuyo mínimo procesamiento permite mantener sus propiedades naturales y tornarlas fáciles de utilizar por el consumidor, ya sea para consumo directo en crudo o para preparaciones culinarias" (CAA, Artículo 925 tris – Resolución Conjunta SPReI N° 192/2012 y SAGyP N° 799/2012).

La elaboración de FyHMP se convirtió en un verdadero desafío tecnológico, ya que por un lado son muy pocas las estrategias de preservación que pueden utilizarse para mantener adecuadamente la calidad de estos productos y, por otra parte, las operaciones como el pelado o el cortado provocan un cierto nivel de daño a los tejidos, que limita de manera importante su vida útil. Entre estas alteraciones, se pueden mencionar: el ablandamiento de los tejidos, el incremento del metabolismo, la inducción de la producción de etileno, el aumento de la pérdida de peso (principalmente por pérdida de agua), y el incremento en la susceptibilidad al pardeamiento enzimático y a la contaminación microbiana. En los últimos años, el estudio de la preservación de FyHMP se enfoca cada vez más en mantener su frescura y propiedades naturales, y en la aplicación combinada de tratamientos suaves, capaces de actuar de manera sinérgica, o al menos aditiva, lo que se conoce genéricamente como "tecnología de barreras" (Barret *et al.*, 2010; Denoya, 2015; González-Buesa *et al.*, 2011).

1.3. Prevención de alteraciones en FyHMP: Caso del pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático constituye una de las principales alteraciones de las FyHMP, ya que su desarrollo deteriora el color de los productos, afecta al *flavor* y disminuye la calidad nutricional. Desde el punto de vista químico, este fenómeno se inicia con la oxidación de compuestos fenólicos produciendo o-quinonas por acción de enzimas, principalmente la polifenoloxidasa (PPO). Subsecuentemente, estas quinonas se condensan y reaccionan de manera no enzimática con otras sustancias tales como compuestos fenólicos y aminoácidos, para producir polímeros marrones complejos (melaninas). La susceptibilidad al pardeamiento enzimático depende de muchos factores,

entre los que se pueden mencionar: la actividad intrínseca de la PPO, el contenido de fenoles, el contacto con el oxígeno atmosférico, y la relación enzima-sustrato. En función de esto y del corte producido en este tipo de productos, muchas de las investigaciones realizadas sobre la prevención del pardeamiento enzimático se enfocan precisamente en el control de la interacción de la PPO con los compuestos fenólicos y el oxígeno (González-Buesa *et al.*, 2011), por lo que la actividad de la enzima es la limitante en esta reacción.

La síntesis de los compuestos fenólicos comienza en el retículo endoplasmático. Una vez formados, estos compuestos son glicosilados y transportados en vesículas a la vacuola, la cual representa el principal sitio de almacenamiento, aunque también pueden encontrarse en los cromoplastos, citoplasma y, en cantidades muy pequeñas, en las mitocondrias (Toivonen & Brummel, 2008). Por su parte, la enzima PPO se ubica exclusivamente en los cloroplastos. Esta compartimentalización, típica de un tejido vegetal intacto, evita la ocurrencia de reacciones de pardeamiento en forma significativa, dada la separación física entre enzima y sustrato (Yoruk & Marshall, 2003). Por lo tanto, el evento inicial en el proceso de pardeamiento oxidativo es la ruptura de las membranas de las células de los tejidos vegetales, lo que permite el contacto entre los compuestos, iniciándose las reacciones mencionadas. Esta descompartimentalización puede ocurrir como consecuencia de un estrés físico, o por procesos de deterioro, como los generados por daño mecánico o senescencia (Toivonen & Brummel, 2008).

Según la comisión de enzimas (EC), la PPO pertenece al grupo de las oxidoreductasas, (Nevin, 2009). Esta enzima actúa sobre dos tipos de sustratos, los monohidroxifenoles, hidroxilándolos en posición orto con respecto al grupo hidroxilo original y los o-dihidroxifenoles, oxidándolos a quinonas por remoción del hidrógeno del grupo hidroxilo (Ramírez & Whitaker, 2003; Ayaz et al., 2007), lo cual es seguido por la formación no enzimática de melaninas. La reacción de hidroxilación es relativamente lenta y provoca la formación de productos incoloros, mientras que la reacción de oxidación es relativamente rápida y produce quinonas coloreadas. Las reacciones subsecuentes de las quinonas conducen a la acumulación de melaninas, que son los pigmentos marrones, negros o rojizos asociados al pardeamiento de los tejidos vegetales (Fig. 4), (Toivonen & Brummel, 2008).

Fig. 4: Mecanismo de acción de la polifenoloxidasa (PPO) sobre los mono- y difenoles, en el cual la actividad de hidroxilación tiene una menor velocidad máxima que la actividad de oxidación (Toivonen & Brummel, 2008).

La característica estructural más importante de la PPO es la presencia, en su centro activo, de dos átomos de cobre unidos a histidina. Alrededor de ellos, se sitúan aminoácidos hidrofóbicos con anillos aromáticos, importantes para su unión a los sustratos (Calvo, 2007). La forma más tradicional para controlar el pardeamiento enzimático está representada por la adición de sulfitos (Sapers, 1993), los cuales actúan como agentes reductores transformando las o-quinonas en difenoles menos reactivos, previniendo de esta forma el desarrollo de melaninas. Si bien de esta manera se evita el pardeamiento enzimático con una alta efectividad y bajo costo, la utilización de sulfitos ha sido restringida en frutas y hortalizas por la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (Langdon, 1987). En nuestro país, la Resolución Conjunta 57/2010 y la Modificación 548/2010 de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), desalientan también el uso de esta sustancia, debido a la posibilidad de inducción de reacciones alérgicas en individuos asmáticos. Si bien existen otros aditivos tales como 4-hexylresorcinol, cisteína, acidulantes, antioxidantes y agentes quelantes, que han empezado a utilizarse últimamente como alternativa a los sulfitos, estos generalmente no poseen su efectividad ni presentan su multifuncionalidad, considerando su adicional poder microbicida, por lo que hasta el momento no se ha encontrado una alternativa de reemplazo adecuada (Denoya, 2015; Perera et al., 2010; Smith, 1993; Wiley, 2017).

1.4. Defensa fisiológica vegetal ante tratamientos de estrés

1.4.1. Generalidades

En los últimos años, se han llevado a cabo distintas investigaciones focalizadas en una estrategia emergente de conservación que consiste en la aplicación limitada de un determinado estrés capaz de inducir cambios fisiológicos en los tejidos celulares de una planta, que los proteja frente a intensidades mayores del mismo estrés, o incluso frente a otros tipos de estrés. Así, por ejemplo, la aplicación de un *shock* térmico se ha utilizado para prevenir el desarrollo de alteraciones fisiológicas desencadenadas por el almacenamiento en frío, prolongando en consecuencia la vida útil de frutas y hortalizas (Klein & Lurie, 1992). En particular, este tipo de tratamiento térmico puede inhibir tanto procesos enzimáticos, como la producción de ciertas hormonas como el etileno (Lurie, 1998; McDonald *et al.*, 1998; Sabehat *et al.*, 1996; Sanchez-Ballesta *et al.*, 2000). El efecto de un tratamiento de estrés sobre los parámetros fisiológicos y bioquímicos de las frutas depende en gran medida tanto del tipo como de la intensidad del estrés aplicado. Es importante considerar que, a partir de un determinado nivel de estrés, los cambios en los tejidos pueden generar un importante deterioro del producto que no pueda revertirse, por lo que el daño se convierte en permanente (Polenta *et al.*, 2006).

1.4.2. Proteínas de estrés térmico (HSP)

En cuanto a la base bioquímica de la protección frente al calor, se ha descrito que la exposición de la mayoría de los tejidos vivos de animales, plantas y procariotas a un incremento transitorio de temperatura entre 5 y 10 °C, induce la síntesis de un grupo específico de proteínas chaperonas denominadas "heat shock proteins" o proteínas de estrés térmico (HSP), normalmente ausentes o bien presentes a niveles más bajos en células no estresadas (Brodl, 1989; Lafuente et al., 1991; Polenta et al., 2020). Dentro del mismo mecanismo de respuesta, se ha observado también que la concentración de muchas de las proteínas sintetizadas a la temperatura óptima de desarrollo del organismo en cuestión disminuye de forma importante, situación que permitiría dirigir prácticamente toda la energía hacia la síntesis de las HSP (Key et al., 1981). La sobreexpresión de HSP se ha identificado como un marcador temprano de una exposición al estrés (Basile et al., 2013), y se ha relacionado con la resistencia adquirida de los productos tratados térmicamente contra el daño por frío (Ré et al., 2017).

Aunque la función de las HSP no se ha establecido por completo, se estima que actúan en sinergia con otros mecanismos para hacer frente al daño celular provocado por un estrés (Wang *et al.*, 2004). Además de las altas temperaturas, la síntesis de HSP puede desencadenarse por otros tipos de estrés, como por ejemplo la presencia de metales

pesados, los detergentes no iónicos, la exposición a pHs bajos, las infecciones microbianas, la rotura de tejidos, los daños mecánicos y las radiaciones (Ali & Banu, 1991; Park *et al.*, 2000; Polenta *et al.*, 2020). Se sabe que estas proteínas pertenecen a familias de multigenes, en las cuales no todos los miembros están regulados por altas temperaturas (Vierling, 1991). Aunque su función no ha sido completamente establecida, el hecho que estas proteínas estén altamente conservadas, y que todos los organismos investigados sean capaces de producirlas, indica que su función debe ser muy importante.

Las HSP han sido involucradas en la regulación de una gran variedad de procesos celulares como ser: el transporte de macromoléculas a través de membranas, el correcto ensamble de proteínas oligoméricas, la disociación de estructuras proteicas incorrectamente ensambladas, y el reconocimiento y degradación de polipéptidos desnaturalizados (Polenta *et al.*, 2007; Trofimova *et al.*, 1999). Se sabe que, en células no estresadas, estas proteínas participan en procesos de homeostasis proteica, como el plegamiento, la agregación y el transporte de proteínas. Cuando una célula es sometida a un tratamiento que causa algún daño a las proteínas celulares, se induce la síntesis de las HSP a niveles que se corresponden con el nivel de estrés aplicado. Se cree que, bajo condiciones adversas, las HSP contrarrestan los efectos proteotóxicos, previniendo la desnaturalización de proteínas y manteniéndolas en el estado plegado, además de promover la reparación de las proteínas anormales (Bierkens, 2000; Soto *et al.*, 1999).

Actualmente, son reconocidas cinco familias de HSP: la familia de HSP100; la familia de HSP90; la familia de HSP70; las chaperoninas (HSP60); y la familia de proteínas de estrés de bajo peso molecular (*small heat shock proteins* = sHSP). Aunque la participación de las HSP en procesos celulares ha sido descripta con bastante detalle en otros organismos, se conoce muy poco sobre su función en plantas afectadas por un estrés diferente del térmico. Se cree que, además de su participación en la tolerancia adquirida al estrés, estas proteínas actuarían de manera sinérgica asociadas a otros mecanismos y componentes celulares, a fin de disminuir el daño celular (Wang *et al.*, 2004).

Familia de HSP70

Las HSP70, junto con sus co-chaperonas, forman una maquinaria que asiste a un amplio rango de procesos de plegamiento de proteínas en casi todos los compartimentos celulares. Estas proteínas tienen la función principal de prevenir la agregación y ayudar en el replegado de proteínas no nativas, tanto en procesos normales como bajo situaciones

de estrés. Además, los miembros de esta familia estarían involucrados en procesos tales como la degradación proteolítica de proteínas inestables, marcándolas para su procesamiento en lisosomas o proteosomas (Wang et al., 2004). Una función importante de las mismas sería la de participar en la importación de proteínas, así como en otros procesos de translocación (Polenta et al., 2007). Estructuralmente, estas proteínas están formadas por un dominio ATP-asa N-terminal altamente conservado de 44 kDa, y un dominio C-terminal de 25 kDa, capaz de unir péptidos. La sobreexpresión de genes de HSP70 se correlaciona positivamente con la adquisición de termotolerancia y con la tolerancia aumentada al estrés salino e hídrico, cumpliendo también una función regulatoria de importancia en la expresión de otros genes relacionados con el estrés. En definitiva, estas proteínas ayudarían en el ensamble de otras proteínas, suprimiendo las reacciones secundarias no productivas (Ali & Banu, 1991; Myernik, 1997).

Familia de proteínas de bajo peso molecular (sHSP)

Las sHSP poseen pesos moleculares entre 15 y 40 kDa, constituyendo en plantas la familia más diversa en cuanto a la identidad de secuencia, localización celular y función. Son sintetizadas de forma ubicua en células procariotas y eucariotas en respuesta al calor y a otros tipos de estrés e, incluso, durante ciertos periodos del desarrollo de la planta. Las sHSP comparten un dominio C-terminal conservado de 90 aminoácidos (Vierling, 1991). De las cinco familias de HSP, las sHSP son las que prevalecen en plantas, y la localización a nivel celular sería dependiente de la proteína en particular. Según Wang et al., (2004), las plantas sintetizan múltiples sHSP que son codificadas por 6 familias de multigenes nucleares. Cada familia de genes representaría a proteínas destinadas a distintos compartimentos celulares (citosol, cloroplasto, retículo endoplasmático o mitocondria). La alta diversificación de las sHSP vegetales refleja, probablemente, una adaptación molecular a condiciones de estrés que son únicas en las plantas, ya que las mismas responden a un amplio rango de agresiones ambientales como el calor, el frío, la alta salinidad, el estrés oxidativo, el estrés hídrico y el daño mecánico (Sabehat et al., 1998). Una función de gran importancia de estas proteínas en tejidos verdes es la de proteger el fotosistema II (de conocida sensibilidad al calor) y, por lo tanto, mantener activo el transporte electrónico fotosintético durante un estrés térmico (Heckathorn et al., 1998). Con respecto a su modo de acción, se ha comprobado in vitro una alta capacidad de unión a proteínas no nativas, probablemente a través de interacciones hidrofóbicas, siendo capaces por sí solas (actuando de manera independiente del ATP) de volver a plegar enzimas desnaturalizadas y lograr la recuperación de su actividad (Lee *et al.*, 1995). Sin embargo, se postula que *in vivo*, podrían actuar en forma concertada con otras HSP. Aparentemente, las sHSP actuarían previniendo la agregación, mientras que otras HSP (como las HSP70) tendrían a su cargo el replegado de las proteínas de manera dependiente del ATP (Lee & Vierling, 2000; Zeng *et al.*, 2016). Se ha establecido que existe interacción entre las HSP y otros sistemas de defensa en plantas. Por ejemplo, ante el ataque de patógenos, se induce normalmente en plantas una respuesta defensiva que incluye la activación del metabolismo fenilpropanoide. Se ha demostrado que la aplicación de un tratamiento de estrés térmico induce un estado de termotolerancia, caracterizado por el aumento de HSP70, que es capaz de proteger al metabolismo fenilpropanoide ante la exposición posterior a altas temperaturas. De esta forma, se preservaría este mecanismo defensivo que, de lo contrario, hubiera hecho vulnerable a la planta ante el ataque de patógenos (Kuun *et al.*, 2001).

1.4.3. Aspectos tecnológicos y usos prácticos de las HSP

Además de la reconocida importancia que poseen estas proteínas como protectoras contra el estrés, también se han llevado a cabo en los últimos años investigaciones en donde se utiliza a las mismas con fines prácticos tecnológicos. Debido a que los cambios producidos a nivel bioquímico constituyen las primeras respuestas detectables frente a las perturbaciones ambientales, se ha propuesto utilizar la detección y cuantificación de las proteínas de estrés con fines de biomonitoreo de la contaminación ambiental. Un hecho de importancia es que los niveles elevados de proteínas de estrés inducidos por distintos agentes de polución persisten en el tiempo. El uso de anticuerpos, tanto policionales como monoclonales, ha sido de gran utilidad en la detección/cuantificación de proteínas de estrés, aunque se prefiere el uso de los primeros por ser más versátiles para estudios ambientales que involucren a distintas especies (Bierkens, 2000). Dunlap y Matsumura (1997) identificaron entre las HSP70 de diferentes especies una secuencia de 16 aminoácidos altamente conservada. Mediante la obtención de anticuerpos policionales contra esta porción, se demostró el aumento de HSP, tanto en especies animales como vegetales sometidas a estrés físico, o expuestas a contaminantes químicos como policloruro de bifenilo (PCB), dicloro difenil tricloroetano (DDT) o lindano (Polenta et al., 2020). Las proteínas de estrés han sido utilizadas, además, en estudios evolutivos o filogenéticos. En este sentido, las sHSP son particularmente interesantes ya que estas proteínas dominan el perfil biosintético proteico durante un estrés térmico, acumulándose luego de un tratamiento hasta representar en algunos tejidos vegetales más del 1% del total de las proteínas (Knight & Ackerly, 2001). Desde el punto de vista de la tecnología de poscosecha de frutas, se plantea la utilización de las sHSP como indicadores moleculares de la intensidad de la aplicación de un tratamiento de estrés, o como forma de monitoreo de la permanencia del efecto protector durante el almacenamiento.

1.5. Tecnologías de preservación no térmicas

En la actualidad y en función de las demandas de los consumidores, las tecnologías de preservación de alimentos presentan el gran desafío, no sólo de asegurar la inocuidad y extender la vida útil, sino también de garantizar otros aspectos relacionados, entre los que pueden mencionarse: mantener las características fisicoquímicas y los atributos sensoriales y nutricionales originales del alimento, evitar que la tecnología tenga efectos residuales en la matriz alimentaria, producir alimentos de bajo costo pero de calidad, y cumplir con los marcos regulatorios vigentes y las expectativas y oportunidades del mercado al cual se apunta. En este sentido, las nuevas tendencias de consumo llevan a los productores a dirigir sus esfuerzos y proyectos hacia la búsqueda de alimentos listos para su consumo, de fácil cocción y preparación (Denoya et al., 2020; Montero-Calderón, 2009). Las tecnologías de preservación convencionales tienen como objetivo la producción de alimentos inocuos y de larga vida útil. Sin embargo, un efecto no deseado de las mismas es que, en algunos casos, la calidad del producto final es significativamente menor al de la matriz alimentaria original y, por otro lado, tienen un impacto negativo sobre el ambiente, lo cual representa en la actualidad un tema de gran preocupación (Artés-Hernández et al., 2014; Wiley, 2017).

La demanda creciente de alimentos mínimamente procesados por parte del consumidor, junto a la necesidad de garantizar la inocuidad de los alimentos y el deseo de reducir el consumo energético en el procesamiento, han impulsado el desarrollo y la aplicación de nuevas tecnologías en la industria alimentaria. En relación con esto, se han comenzado a estudiar distintas tecnologías no térmicas, tanto físicas como químicas, las cuales están alcanzando un avance importante en la preservación de productos frutícolas (Al-juhaimi et al., 2018; M. Li et al., 2019; X. Li et al., 2019; Xue et al., 2016). Entre estas tecnologías, se pueden mencionar las siguientes:

Luz UV-C / Altas Presiones Hidrostáticas / **Irradiación de Alimentos** / Ultrasonido / Campos magnéticos oscilantes / Campos eléctricos de alta intensidad / Pulsos de luz

blanca / Plasmas no térmicos más conocidos como "Plasma frío" / Dióxido de carbono en fase densa/ Agua electroactivada / Ozono / entre otros.

A diferencia de los procesos térmicos convencionales, muchas de estas tecnologías se utilizan para procesar el alimento sin que se alteren significativamente los compuestos de interés, como pigmentos, componentes nutricionales y compuestos asociados al *flavor*. Además, hay que destacar que, mediante estas tecnologías, se preservan compuestos termosensibles como ciertas vitaminas, minerales, antioxidantes y compuestos bioactivos (Fan & Wang, 2020; Hu *et al.*, 2021; Jacobo-Velázquez *et al.*, 2017).

La utilización de tecnologías no térmicas en el procesamiento de alimentos proporciona una serie de ventajas, ya que las mismas, reducen el consumo de energía, son limpias y de menor duración, reducen la huella de carbono, reducen la cantidad de ingredientes, resultan fáciles de combinar con otro tipo de tecnologías, y, quizás lo más importante, generan productos inocuos y de mejor calidad con apariencia de frescos.

La eficacia de algunas de las tecnologías mencionadas se conoce desde hace tiempo, sin embargo, es un campo en el cual durante los últimos años se han generado los mayores avances tecnológicos, que han hecho posible su estudio en el ámbito legislativo y su posterior aprobación para su aplicación a nivel industrial. Además, tecnologías como las altas presiones hidrostáticas, el plasma frío y el agua electroactivada se están investigando como factor de estrés para incrementar compuestos promotores de la salud en frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Denoya *et al.*, 2021).

1.6. La irradiación de alimentos como tecnología de preservación

1.6.1. Definición

La irradiación de alimentos es una tecnología física de preservación totalmente inocua, aplicada en la forma de radiaciones ionizantes. Se la conoce también como "esterilización en frío", porque aplicada en dosis adecuadas, se logra la inactivación de microorganismos (incluyendo esporas) que pueden proliferar en el alimento durante el almacenamiento a temperatura ambiente, sin transferencia de calor al mismo (Barkai-Golan & Follett, 2017).

Esta tecnología consiste en la exposición de los alimentos a la energía emitida por una fuente de radiación durante un tiempo determinado, de forma tal que el producto absorba una cantidad controlada de energía por unidad de masa. En una planta industrial de irradiación, el control de la dosis absorbida se realiza a través de un único parámetro, el

tiempo de exposición. Así, con una sola variable a controlar, el proceso es de alta confiabilidad y repetibilidad. Una de las principales ventajas es que esta tecnología no produce efluentes industriales. Los productos pueden procesarse en sus envases originales y, luego del tratamiento, pueden ser utilizados o consumidos sin necesidad de cuarentena (Bonilla, 2015; Prakash & Ornelas-Paz, 2019).

En cuanto a sus aplicaciones, distintos estudios han comprobado que la irradiación produce los siguientes efectos positivos sobre productos alimenticios: desinsectación y descontaminación fúngica y microbiana (tanto alterante como patógena), desparasitación, inhibición de brotes, retraso de la maduración y senescencia, tendientes a una mayor vida comercial, y eventualmente, la esterilización de alimentos (Mostafavi, 2012).

La irradiación se ha mostrado muy efectiva para prevenir enfermedades transmisibles al consumidor al ser capaz de inactivar agentes patógenos potencialmente presentes en el alimento. Se ha comprobado que, en las dosis consideradas como seguras, la ionización asociada a esta tecnología no produce modificaciones teratogénicas, mutagénicas, carcinogénicas, ni tampoco cambios nutricionales significativos (FAO/OMS, 1989). La irradiación representa también una alternativa a la fumigación, permitiendo reducir o eliminar el uso de conservantes químicos, por ejemplo, el bromuro de metilo, una sustancia prohibida por el protocolo de Montreal (US EPA, 2020). Por otra parte, constituye un proceso sustentable, amigable con el ambiente, permitiendo obtener alimentos más saludables y duraderos, y una mejor conservación, sin necesidad de refrigeración. Además, al no utilizarse calor durante el proceso y por la corta duración del tratamiento, se consigue un significativo ahorro energético en relación a otras tecnologías.

Dada su alta eficacia para prolongar la vida útil de los alimentos, esta tecnología permite minimizar las pérdidas y desperdicios y se espera que la misma represente una oportunidad para ampliar la oferta exportable de productos con valor agregado a grandes distancias.

"Los alimentos perecederos representan un alto costo de stock y transporte, pero con los ionizados se inicia una nueva era" (Ionics S.A., 2019).

1.6.2. Reseña histórica, aspectos legales y de seguridad de la irradiación de alimentos

La irradiación de alimentos ha sido estudiada de manera muy exhaustiva para poder garantizar tanto su efectividad como la total ausencia de efectos adversos. A pesar de esto, la irradiación como tecnología de preservación de alimentos ha generado muchas

controversias, sobre todo por la percepción que los consumidores tienen en relación al uso de la energía nuclear, y sus hipotéticos efectos sobre el ambiente y la salud. Sin embargo, tras rigurosos ensayos, los organismos más prestigiosos de salud autorizaron su uso, reconociendo a esta tecnología como un método eficaz y seguro para conservar los alimentos e incluso extendiendo cada vez más su aplicación potencial a distintos tipos de productos. Así, la irradiación de alimentos ha ido ganando paulatinamente más y más adeptos en todo el mundo, a pesar de su controversia inicial (Rodríguez, 2002).

La tecnología nuclear se comenzó a estudiar a partir de 1896, cuando el ingeniero francés Antoine-Henri Becquerel descubrió sustancias radiactivas que emitían radiaciones ionizantes como los rayos gamma. Dos años más tarde, Pierre y Marie Curie descubren los primeros elementos radioactivos (radio y polonio), mientras que en 1902 se formulan las leyes de decaimiento radiactivo por Rutherford y Soddy (Taylor, 2020). A partir de ahí, comenzó una intensa actividad científica dirigida a estudiar los efectos de las radiaciones ionizantes sobre sistemas biológicos (Parzanese, 2017).

Los usos iniciales de la radiación sobre matrices alimenticias datan de 1905, cuando científicos británicos patentaron por primera vez la irradiación de alimentos como tecnología de preservación. Tres lustros después, en 1921, se aplicaron con éxito en Estados Unidos radiaciones ionizantes (en particular rayos X) sobre cortes de carne de cerdo para inactivar el parásito *Trichinella spiralis* (responsable de la triquinosis). Durante toda esa década, se desarrollaron numerosas investigaciones sobre los efectos de los rayos X aplicados en matrices alimenticias, las que fueron publicadas en diversas revistas biomédicas. A pesar de los estudios y patentes registrados, los altos costos y dificultades para disponer de las fuentes de radiación ionizante impidieron la aplicación industrial del proceso (Príncipe, 2002).

Con el advenimiento de los reactores nucleares y los aceleradores de electrones en los años 40' y 50', se estimuló el desarrollo de nuevos proyectos de investigación en el campo de la irradiación de alimentos. En 1954, se iniciaron los primeros estudios en un programa de investigación llevado a cabo por la *US Office of the Surgeon General* de los Estados Unidos, en el cual se evaluaba la utilización potencial de los isótopos radiactivos para esterilizar y conservar alimentos. El estudio "RALTECH" constituyó uno de los más relevantes en cuestiones toxicológicas asociadas a la irradiación o cualquier otra tecnología de procesamiento de alimentos. Las conclusiones fueron que, la menor incidencia de cáncer se encontró en los grupos de prueba que fueron alimentados con

dietas irradiadas (IAEA/FAO, 1985). En 1958, cuando distintos expertos se reunieron en Ginebra en la "II Conferencia Internacional sobre la Utilización de la Energía Atómica con fines pacíficos", los representantes rusos sorprendieron al mundo comunicando que en su país se había autorizado ya el consumo de papas irradiadas.

En el mundo occidental, el primer uso comercial de la irradiación de alimentos tuvo lugar en Stuttgart (Alemania) en 1957, en donde un comerciante de especias comenzó a irradiar sus productos a fin de garantizar su calidad higiénica. La operación de la planta de irradiación no duró mucho, ya que fue clausurada dos años más tarde, al igual que algunas otras plantas de irradiación que utilizaban el radioisótopo Cobalto-60 (⁶⁰Co), y que habían comenzado a funcionar por aquel entonces. La razón de estas clausuras fue el alerta de la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos sobre la irradiación de alimentos, basándose en que cuando se induce un conjunto de cambios químicos tan complejos en un producto de composición también muy compleja, la recombinación de radicales y moléculas podría originar compuestos cancerígenos en los alimentos. En esa época, las técnicas del análisis químico no eran tan avanzadas y fue imposible demostrar la ausencia de esos compuestos y refutar las acusaciones (EFSA, 2011).

El alerta de la FDA supuso un freno de más de veinte años para esta tecnología, y una alarma que, no por infundada, dejó menos huella. Muchos países, entre los que se encuentra España, que habían autorizado el uso de la irradiación y comenzado experiencias a nivel de investigación, dieron marcha atrás con estas acciones. Sin embargo, no todos los científicos estaban de acuerdo con la FDA, por lo que, luego de diversas reuniones internacionales, se llegó a la conclusión de que esta tecnología ofrecía muchas ventajas, y que no podía ser descartada por declaraciones sin rigor científico.

La primera reunión internacional para estudiar nuevamente este tema tuvo lugar en 1961, en la ciudad de Bruselas. Esta reunión fue convocada por tres organismos dependientes de la Organización de las Naciones Unidas (ONU): el Organismo de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA: *International Atomic Energy Agency*). En esta reunión, a la que asistieron representantes de 28 países, se decidió formar un comité de trabajo con los expertos más prestigiosos en el tema para estudiar a fondo la inocuidad de los alimentos irradiados. Nació así el Comité de Expertos en Irradiación de Alimentos (JECFI), que coordinó acciones y evaluó los resultados de la investigación

internacional en este tema, que eran cada vez más confiables, a medida que la química analítica avanzaba tecnológicamente.

En 1970, el JECFI, en colaboración con la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), planeó un proyecto de evaluación de alimentos irradiados, con estudios que se prolongaron a lo largo de diez años, al final de los cuales se pudo demostrar que en ninguno de los alimentos irradiados se habían encontrado residuos tóxicos o carcinogénicos. Como culminación a este trabajo, el JECFI se reunió en Ginebra en octubre de 1980 donde, basándose en la evaluación de los estudios realizados, hizo público un comunicado en el que concluyó textualmente que "La irradiación de cualquier alimento con una dosis inferior a 10 kGy no presenta ningún peligro toxicológico, ni tampoco introduce problemas nutricionales o microbiológicos especiales. Los estudios realizados son tan evidentes que no son necesarias más pruebas". Se realizaron estudios toxicológicos, radioquímicos y otros más complejos, que demostraron la ausencia de cualquier efecto adverso resultante del suministro de dietas irradiadas a animales de laboratorio, ganado y pacientes inmunodeprimidos (OMS 1980; FAO/OMS, 1989).

Sobre esta base, el *Codex Alimentarius* publicó en 1983 la "Norma general para alimentos irradiados" y el "Código internacional de prácticas recomendadas para el funcionamiento de instalaciones de irradiación para el tratamiento de alimentos" (Codex STAN 106-1983). La publicación de este documento tuvo gran influencia sobre otros desarrollos internacionales, y sirvió de base para la legislación de muchos países. En 1986, la FDA se retractó de sus observaciones anteriores y legalizó en Estados Unidos la irradiación de alimentos, principalmente en frutas y vegetales (para control fitosanitario), carne de cerdo (para control de triquinosis), pollos y huevos (para control de salmonelosis). El primer irradiador comercial de alimentos de esta nueva etapa que utilizó ⁶⁰Co como fuente de irradiación comenzó a funcionar en Mulberry, cerca de Tampa, Florida, a principios de 1992 (Iturbe García & Lopez Muñoz, 2004).

Etiquetado

Considerando que otras formas de procesamiento de alimentos no son declaradas en el rótulo, y que los alimentos irradiados no presentan peligros para la salud de los consumidores, sería lógico considerar que los mismos no deberían declarar en el rótulo que sufrieron un proceso de irradiación. Sin embargo, dado que los alimentos irradiados no pueden ser reconocidos por los consumidores por sus atributos físicos, la única forma

de saber si un alimento ha sido efectivamente sometido a este tipo de tratamiento es llevando una etiqueta que anuncie claramente esta situación mediante un símbolo, con palabras o ambos. El símbolo que se muestra en la Figura 5, denominado "Radura", proviene de los términos: RADiation + "durus" (del latín, duradero). Este tiene reconocimiento internacional para indicar que el producto alimenticio ha sido tratado con radiación ionizante. El símbolo fue ideado en 1972 por el Dr. Ulmann, quién era en su momento director de la Planta Piloto de Irradiación de Alimentos de Holanda (Príncipe, 2002). Su imagen gráfica representa un producto agrícola en su interior, envuelto en un envase cerrado (círculo) pero con roturas, simbolizando la penetración de los rayos ionizantes (Ulmann, 1972).

Las legislaciones de la mayoría de los países que tienen aprobada esta tecnología, requieren que los alimentos irradiados estén rotulados como tales. El *Codex Alimentarius* establece que sea obligatoria la leyenda "Alimento irradiado" o "Tratado con Energía Ionizante" y la inclusión del logotipo internacional "Radura" en todos aquellos productos en el que sus componentes irradiados excedan el 10% del peso total, y se expendan envasados para el consumo directo.



Fig. 5: Radura, símbolo reconocido internacionalmente para alimentos irradiados.

1.6.3. Contexto mundial y contexto argentino

En total, más de 60 países han aprobado el uso de la irradiación para el procesado o la conservación de más de 40 alimentos, tanto de origen animal como vegetal. Entre estos países, se destacan China, Indonesia, Estados Unidos, Sudáfrica, Francia, España, Hungría, Países Bajos, Bélgica, Dinamarca, Rusia, Japón, Vietnam, Argentina, Brasil, Uruguay y México. El interés por esta tecnología sigue en crecimiento debido a la creciente demanda del comercio internacional de alimentos irradiados. Alrededor de 700000 t de productos alimenticios son comercializados cada año (Horak, 2017). En el continente asiático, China es el principal país que irradia sus alimentos (70% de los alimentos irradiados en Asia), representando el mayor productor y consumidor de alimentos irradiados. En Indonesia, el cacao, las especias y los vegetales deshidratados representan más del 85% de los alimentos irradiados. Japón permite la irradiación de papa, mientras que países europeos (Bélgica, Alemania, España, Francia, Polonia, entre

otros) permiten la irradiación de especias, hierbas y vegetales, aunque tales alimentos no representan más del 20% del total de alimentos irradiados. En Estados Unidos se permite la irradiación de especias, papayas, batatas e importa diversas frutas irradiadas tales como mangos, mangostanes, lichis, rambutanes, pitahayas, guayabas, limas dulces, pomelos y pimientos provenientes de India, Tailandia, Vietman y México. Este último país irradia principalmente guayabas y chiles para exportación, pero también, aunque en menor cantidad, irradia carambolas, cítricos, pomelos, higos, pitayas y pitahayas (Prakash & Ornelas-Paz, 2019).

En Argentina, las actividades de investigación y desarrollo relacionadas con el procesamiento de alimentos con radiaciones ionizantes comenzaron en 1965, en la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), institución de referencia en la materia a nivel regional. En los inicios, se realizaron ensayos con trigo (grano y harina), pescado (sábalo, dorado, pejerrey y merluza) y papa. Con los años, la lista de alimentos se extendió notablemente, incluyendo, entre otros, vegetales, pollo, panificados y comidas preparadas. A lo largo de todos estos años de investigación, se pudo comprobar que la calidad nutricional de los alimentos en general no es afectada significativamente por la irradiación (vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, hidratos de carbono y proteínas). Se aclara además que, si bien puede haber una leve pérdida en algunas vitaminas, esto también ocurre con otras tecnologías de preservación, como el tratamiento térmico o la congelación (CNEA, 2020; Fan, 2013; Finten *et al.*, 2017).

Tomando como referencia estas investigaciones, el Código Alimentario Argentino (CAA) reconoce en 1971, en el Art. 174 del Capítulo III ("De los Productos Alimenticios"), el tratamiento de alimentos con radiaciones ionizantes. A partir de ese momento, se aprobó paulatinamente el uso de irradiación para los siguientes alimentos: papas, ajos, cebollas y frutillas (1988); especias y condimentos (1990); frutas secas y vegetales deshidratados (1992); espárragos y champiñones (1994). Además, desde el 2003, el país cuenta con un conjunto de normas IRAM que regula la irradiación de alimentos, por ejemplo, la Norma 20301, que refiere a las buenas prácticas de manufactura para el proceso de irradiación de alimentos destinados para el consumo humano, o la Norma 20304, que especifica los envases y materiales de envases aptos para alimentos irradiados.

Luego de unos años, en 2011, se elaboró a nivel internacional la norma ISO 14470:2011, que fija los "requerimientos para el desarrollo, validación y controles de rutina del proceso de irradiación mediante el uso de radiaciones ionizantes para el tratamiento de

alimentos". Esta norma específica las condiciones requeridas, tanto para el producto irradiado como para el proceso de aplicación. En cuanto al producto, se deben mencionar: nombre y breve descripción, el propósito de su aplicación, el packaging, y las dosis mínima y máxima requeridas. En relación al proceso, se deben precisar las condiciones de almacenamiento (temperatura y estiba) y el rango de dosis (sistema dosimétrico), además de contar con un registro de parámetros y un sistema de etiquetado (indicadores sensibles, "radura", datos de trazabilidad, etc.), (CNEA, 2020). Cabe aclarar que en nuestro país esta norma es de aplicación voluntaria, mientras que es un requisito obligatorio la licencia de operación del irradiador, emitida por el ente regulador nacional, la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN). Posteriormente, la CNEA siguió trabajando en varios proyectos con el fin de extender la lista autorizada de alimentos irradiados, por "clase de productos" similares en composición, los cuales fueron presentados a la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL). Luego de un largo proceso de análisis, consulta pública y aprobación por parte de los representantes del entonces Ministerio de Agroindustria y el Ministerio de Salud, la medida fue finalmente publicada en el Boletín Oficial, modificándose en consecuencia el CAA con el agregado del nuevo listado. En octubre de 2017 entró en vigencia la última actualización, la cual promueve la aplicación de irradiación, extendiendo la misma a distintos tipos de productos: carnes (bovina, porcina, aviar, caprina, pescados y mariscos) y sus derivados frescos o congelados, especias, hierbas y té, cereales y sus harinas, legumbres, semillas, hongos de cultivo, bulbos, tubérculos, raíces, frutas y hortalizas frescas (Clase 2 de la Resolución) y deshidratadas. Dicho artículo establece el límite máximo de dosis a aplicar según el objetivo de la irradiación. La Tabla 2 ejemplifica los propósitos y límites máximos para la clase 2, de interés para el presente trabajo de tesis (CAA, Artículo 174 – Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 13-E/2017).

Tabla 2: Clase 2 (Frutas y Vegetales frescos), Art. 174 del Capítulo III del Código Alimentario Argentino vigente.

Clase de Alimentos y Propósito de la Irradiación	Límite máximo (kGy)	
CLASE 2 – FRUTAS Y VEGETALES FRESCOS		
Propósitos:		
a) Retrasar la maduración	1,0	
b) Desinfestación de insectos	1,0	
c) Control de microorganismos alterantes	2,5	
d) Control cuarentenario	1,0	

Recientemente, durante junio del 2023, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) aprobó, bajo la Resolución 495/2023, las condiciones mínimas para la aplicación de tratamientos con energía ionizante (irradiación) con fines fitosanitarios, definiendo a los "artículos reglamentados" para dichos fines a cualquier planta, producto vegetal, lugar de almacenamiento, de empacado, medio de transporte, contenedor, suelo y cualquier otro organismo, objeto o material capaz de albergar o dispersar plagas, que se considere que debe estar sujeto a medidas fitosanitarias, en particular en el transporte internacional (SENASA, 2023).

Debe destacarse nuevamente que los tratamientos de alimentos con radiación ionizante no representan ningún peligro para la salud, aunque para la autorización de los mismos, debe probarse la existencia de una necesidad tecnológica razonable, y no deben utilizarse bajo ningún concepto como reemplazo de los buenos hábitos higiénico-sanitarios incluidos en las buenas prácticas de manufactura (BPM) o de agricultura (BPA), ni tampoco para reducir niveles inaceptablemente altos de contaminación microbiana (CNEA, 2020).

Equipamiento nacional

En Argentina, la implementación y difusión de esta tecnología resultaría particularmente beneficiosa por las capacidades existentes. Por un lado, se cuenta con la extensa trayectoria en investigación, desarrollo e innovación de CNEA. Por el otro, se tiene la gran ventaja competitiva de contar con producción nacional de ⁶⁰Co, una de las fuentes de emisión de radiaciones ionizantes autorizadas para ser aplicadas sobre alimentos, lo que significa que el principal insumo requerido para el proceso de irradiación proviene de la industria nacional. La obtención de este radioisótopo se realiza desde 1983 en la Central Nuclear de Embalse, Córdoba. La importante producción y el limitado uso que se hace de esta fuente de energía en el país hacen que Argentina sea actualmente uno de los principales exportadores mundiales de ⁶⁰Co. Desde 1997, la Central Nuclear, antes netamente estatal, pasó a manos de la empresa Dioxitek S.A., sociedad privada-estatal argentina (ALATI, 2014).

Argentina cuenta actualmente con dos plantas de irradiación de alimentos que utilizan ⁶⁰Co como fuente de energía. La más antigua es la Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI), que fue diseñada por profesionales de CNEA y funciona desde 1970 en el Centro Atómico Ezeiza (CAE), localizado en Ezeiza, Buenos Aires. La otra planta industrial de

irradiación de alimentos a nivel comercial pertenece a IONICS S.A., empresa privada que opera desde el año 1989 y está instalada en Talar de Pacheco, Buenos Aires. Es importante destacar que la tecnología empleada para el diseño y puesta en marcha de esta planta es también de desarrollo nacional.

El total de alimentos irradiados por ambas instalaciones alcanza aproximadamente las 4000 t por año (ALATI, 2020). De ese total, la mayor parte corresponde a especias que se utilizan en otros alimentos como aditivos (por ejemplo, en elaboración de chacinados y aderezos). Otros alimentos que se irradian son en su mayoría productos deshidratados, como cacao en polvo, suero bovino desecado, huevo deshidratado, extracto de carne, polen, harina de soja, harina de legumbres, entre otros.

1.6.4. Fuentes de radiación permitidas e Instalaciones

Los tipos de radiación que se aplican en alimentos son las llamadas radiaciones ionizantes, porque son capaces de convertir átomos y moléculas en iones, pudiendo también producir indirectamente radicales libres por rotura de los enlaces entre átomos. Este efecto combinado de ionización y radiólisis se debe a la interacción de la radiación con los electrones de la corteza de los átomos. No todos los tipos de radiación ionizante son apropiados para la irradiación de alimentos. Es necesario, además, que la radiación penetre en el alimento lo suficiente para llevar su acción al punto deseado. Los siguientes tipos de radiaciones ionizantes pueden ser usados para la irradiación de alimentos (CAA, Artículo 174; FAO/OMS, 1989):

- La radiación gamma, procedente de la desintegración de radionucleidos, como pueden ser el Cobalto-60 (⁶⁰Co) y el Cesio-137 (¹³⁷Cs).
- Rayos X, generados por máquinas que operan a un nivel de energía de hasta 5 MeV.
- Electrones acelerados o haces de electrones provenientes de generadores que operan a un nivel de energía de hasta 10 MeV.

Como en cualquier instalación industrial, es requisito esencial que el proceso sea viable económicamente, permitiendo la competitividad del producto en el mercado.

Los isótopos radiactivos emiten radiación gamma como consecuencia de su desintegración, por lo tanto, su acción irradiante no puede detenerse a voluntad. Las otras fuentes pueden desconectarse y conectarse a la red eléctrica según se considere oportuno

y, cuando se desconectan, dejan de ser radiactivos, lo cual representa una ventaja operativa.

Hoy en día, hay dos fuentes de irradiación que cumplen el requisito de permitir una producción económica: los isótopos radiactivos artificiales y los aparatos generadores de electrones acelerados. Sin embargo, estos últimos tienen una penetración limitada, útil en los casos que se requiera irradiar productos en cajas individuales. Los aparatos de rayos X, que podrían obviar esta limitación, tienen el inconveniente de ser muy costosos, porque la conversión de la electricidad en rayos X es un proceso de escaso rendimiento, al menos en los modelos que se han probado para irradiar alimentos, y que son una adaptación de los tradicionalmente empleados en la radiografía médica (IAEA, 2007).

A continuación, se resumen las características de los tipos de radiación utilizados en alimentos respecto al poder de penetración en la materia, la capacidad de producción y la eficiencia del proceso (Tabla 3):

Tabla 3: Características de los tipos de radiación utilizados en alimentos (Ionics, 2019).

Características	Gamma	Rayos X	Haces de electrones
Producción t/hora	Media	Media/Baja	Alta
Poder de penetración	Alta	Alta	Muy baja
Eficiencia	Alta	Baja	Alta
Rendimiento	Bajo	Alto	
Fuente	Isótopo radioactivo	Energía y sistemas de refrigeración	
Emisión	Continua	ON/OFF	
Radioisótopo con decaimiento	SI	NO	
Mantenimiento y operación	Complejo		

Fuentes de rayos gamma

La radiación o fotones gamma (γ) está constituida por paquetes de ondas electromagnéticas que se mueven a la velocidad de la luz. En el espectro de radiación electromagnética (Fig. 6), se sitúa en la zona de altas frecuencias y energías. La radiación γ es, por lo tanto, de naturaleza ondulatoria, carente de masa y de carga, semejante a la luz ordinaria, pero con menor longitud de onda (Fan, 2013; Rodríguez, 2002).

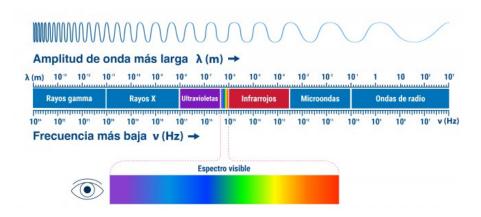


Fig. 6: Espectro electromagnético

Como fuera mencionado, los dos radionucleidos artificiales con que se fabrican las fuentes isotópicas de radiación γ son el 60 Co y el 137 Cs. Los isótopos radiactivos se caracterizan por su vida media y la energía de los fotones gamma que emiten, definiéndose a la vida media como el tiempo que tarda la radiactividad de un isótopo en reducirse a la mitad.

En este sentido, el 60 Co tiene una vida media de 5,27 años y, por decaimiento (desintegración β ⁻), se transforma en Níquel-60, isótopo estable, emitiendo en cada desintegración, 2 fotones γ (1,17 MeV y 1,33 MeV) y radiación β de 0,31 MeV (Fig. 7). El 60 Co se obtiene exponiendo cilindros delgados del isótopo natural estable 59 Co, que es un metal abundante en la naturaleza, al bombardeo de neutrones (activación neutrónica) en un reactor nuclear especialmente diseñado para la producción de isótopos radiactivos. Una vez activado, el cobalto, que sigue en forma metálica insoluble, se introduce en cápsulas de acero inoxidable AISI 316L (apto para alimentos), que se cierran herméticamente por soldadura. Se las conoce con el nombre de agujas de cobalto y las dimensiones estándar de la aguja son de aproximadamente 450 mm de largo y 10 mm de diámetro (Fig. 8). Esta forma limita la autoabsorción de la radiación γ por el material de la propia fuente al 5%. La radiación β queda detenida, y las agujas se acoplan una sobre otra (Taylor, 2020).

Por su parte, el 137 Cs tiene una vida media de 30,17 años y decae en el Bario-137, isótopo estable, emitiendo en cada desintegración un fotón γ de 0,66 MeV y radiación β de 0,51 MeV (Fig. 7). El 137 Cs es un producto de la fisión de combustibles nucleares, tal como el uranio, por lo que su obtención está ligada al reproceso de los combustibles nucleares gastados, lo cual es una operación muy laboriosa. Este isótopo también se encapsula, como en el caso del 60 Co, pero por su solubilidad en agua y facilidad de

dispersión, se exige una encapsulación doble o triple y el espesor resultante da lugar a una autoabsorción de la radiación γ del 30%. Esto, unido a la menor energía de la radiación que emite, ha llevado a que la mayoría de las instalaciones de irradiación de alimentos utilicen fuentes de 60 Co, a pesar de la mayor vida media del 137 Cs (IAEA, 2007).

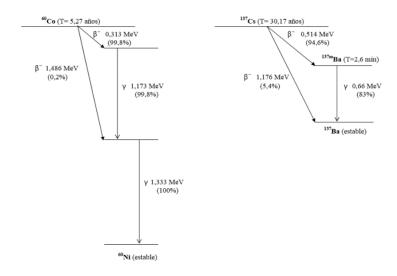


Fig. 7: Esquemas de desintegración simplificados de ⁶⁰Co y ¹³⁷Cs (IAEA, 2007).

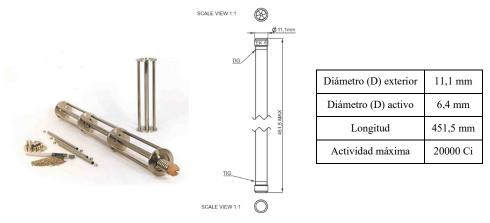


Fig. 8: Fuentes selladas de ⁶⁰Co producidas y comercializadas por Dioxitek S.A., Argentina. Dimensiones del modelo FIS 6003, uso industrial, apto alimentos (Dioxitek S.A.).

Instalaciones

El proceso general de la irradiación consiste en exponer al alimento a una fuente radiante por un tiempo determinado, obteniendo así el producto tratado (Fig. 9). Para el caso de la irradiación gamma con fuente de ⁶⁰Co, los alimentos se colocan en la zona de carga en los contenedores que forman parte del sistema de transporte. Luego, mediante control remoto y, desde una consola exterior, se eleva la fuente conteniendo las agujas de ⁶⁰Co dispuestas en bastidores, mientras que los contenedores se desplazan lentamente a su alrededor a un ritmo controlado, para que absorban la cantidad de radiación calculada

oportunamente. Los alimentos entran y salen de la cámara de irradiación a través de un laberinto (Fig. 10), de manera tal que las ondas electromagnéticas incidan sobre el blindado desde distintas direcciones. Estos cambios de dirección permiten homogeneizar la dosis. Finalmente, los contenedores con los alimentos ya tratados salen a la zona de descarga, desde donde son almacenados en depósitos, y luego se distribuyen para su consumo u otro destino intermedio.

El mecanismo de transporte puede ser una cinta sinfín, un monocarril con plataforma, o sistemas de cambio de dirección. Los accesos auxiliares, mirillas, tubos de ventilación y cableado que atraviesan el hormigón, tienen un perfil en escalera, para evitar que la radiación encuentre caminos sin blindaje. Desde la consola exterior, se accionan la subida o bajada de la fuente y los mecanismos de transporte, regulando además su velocidad. Se realiza un mapeo de dosis previo (evaluando dosis mínima y máxima), mientras que la cantidad de dosis que recibe el alimento se determina a través del tiempo de exposición del producto a la radiación, dependiendo de la masa, densidad y el espesor del alimento. Por normativa, el sistema de control de tiempos del irradiador debe ser calibrado periódicamente (ISO 14470, 2011).

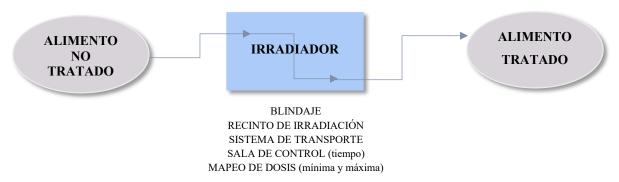


Fig. 9: Esquema general del proceso de irradiación de alimentos.

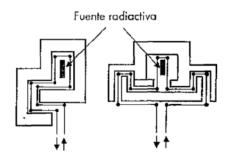


Fig. 10: Tipos de laberinto de acceso a la cámara de irradiación.

El diseño conceptual de una planta de irradiación se muestra en la Figura 11. Para impedir la exposición del personal de operación a la radiación, debe disponerse de un recinto blindado. Generalmente, se utiliza hormigón como blindaje radiobiológico, dado que el mismo provee solidez al conjunto. La unidad derivada de la dosis de radiación ionizante en el Sistema Internacional (SI), que mide el efecto que produce sobre la salud los niveles de radiación ionizante en el cuerpo humano, es el Sievert (Sv). De acuerdo con la normativa de protección radiológica, la dosis máxima admisible para el personal es de 50 mSv/año (ARN, 2019), por lo que el espesor del blindaje suele estar entre 1,5 y 2 m para asegurar que la tasa de radiación en la pared externa del blindaje sea inferior a esta dosis máxima.

Si la fuente radiactiva es un radionucleido, la radiación se produce continuamente, por lo que es necesario tener otro recinto blindado en donde guardar la fuente cuando sea necesaria la entrada del personal para labores de mantenimiento. En la mayoría de los irradiadores, se construye un pozo profundo que se conoce como "piscina", en donde se sumerge la fuente radiactiva en agua (Fig. 11 (6) y Fig. 12). El resplandor azul que se produce en el agua del irradiador se debe al "efecto Cherenkov", causado por partículas muy energéticas que viajan en el agua a velocidades mayores a la de la luz. La velocidad de la luz depende del medio, y alcanza su valor máximo en el vacío (IAEA, 2022).

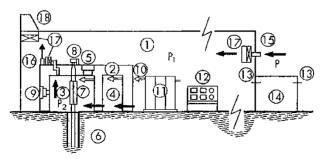


Fig. 11: Diseño conceptual de una planta de irradiación isotópica (sección vertical). Referencias: (1) nave, (2) recinto blindado, (3) cámara de irradiación, (4) laberinto, (5) acceso de intervención, (6) piscina, (7) fuente radiactiva, (8) elevador de la fuente radiactiva, (9) ventana de vidrio denso, (10) tren de arrastre de los contenedores, (11) contenedores, (12) consola de control, (13) puertas de acceso a la nave a través de la esclusa, (14) esclusa, (15) entrada del sistema de ventilación, (16) extractores, (17) filtros, (18) salida del sistema de ventilación en cascada de depresiones: P > P₁> P₂ (Rodríguez, 2002).



Fig. 12: Piscina para sumergir y almacenar la fuente radiactiva. Visualización del efecto Cherenkov.

A continuación, se presentan a modo de ejemplo imágenes de la planta Ionics S.A. (Argentina), en donde se visualizan: la sala de comando, el sistema de transporte, la sala de irradiación, junto a la cámara de irradiación, las fuentes de ⁶⁰Co, la salida del material irradiado y el depósito de los productos terminados (Fig. 13, 14, 15).



Fig. 13: Vistas panorámicas de la sala de comando, el sistema de transporte y el bunker de irradiación de la Unidad Radiante 2 de Ionics.



Fig. 14: Sala de irradiación de Ionics e interior de la cámara de irradiación, con fuentes de ⁶⁰Co.



Fig. 15: Salida de materiales irradiados de la Unidad Radiante 1 de Ionics y depósito (Ionics, S.A.).

1.6.5. Dosimetría

La intensidad del tratamiento a aplicar al alimento se determina en función de la dosis de radiación, definida como la cantidad de energía absorbida por la materia durante la exposición. Desde 1988, en el SI, la unidad de dosis es el Gray (Gy). Un gray representa un Joule (J) de energía absorbido por kilogramo de producto irradiado (Ecuación 1). Anteriormente, se utilizaba la unidad RAD (*Radiation Absorbed Dose*), siendo la conversión de: 1 Gy = 100 RAD.

Dosis = Energía / Masa Ecuación (1)
$$Dosis = [Joule] / [Kg] = [Gy]$$

Las dosis para la irradiación de alimentos se clasifican generalmente en bajas (< 1 kGy), medias (1 – 10 kGy) y altas (> 10 kGy), (FAO/OMS, 1989). Como se mencionó en la sección 1.6.2., la comisión del Codex Alimentarius recomienda que la cantidad máxima de energía o dosis de radiaciones ionizantes sea de 10 kGy, valor que adopta también el CAA para definir la dosis máxima permitida. Si se hiciera una comparación con la energía térmica, a 10 kGy la energía absorbida equivaldría a la necesaria para aumentar la temperatura de 1 g de agua en 2,4 °C (Loaharanu & Murrell, 1994). Esto se calculó en base a que 10 kGy de energía ionizante equivalen a 10 J/g de energía térmica, siendo el calor específico del agua aproximadamente 4,2 J/g °C. Normalmente, la cantidad de energía utilizada en la irradiación de alimentos para conseguir los fines tecnológicos deseados es extremadamente baja, en el rango de 0,1 a 1,0 kGy, que equivaldría a la energía térmica capaz de elevar la temperatura de 1 g de agua en 0,024 °C o 0,24 °C respectivamente. En consecuencia, este tipo de irradiación puede considerarse en el área de los alimentos como una tecnología "fría" o no térmica de preservación, permaneciendo los productos luego del tratamiento en un estado similar al fresco.

Durante el proceso de irradiación, se realiza un mapeo de dosis previo, para la medición de la distribución y variación espacial de la dosis en el material irradiado en condiciones específicas. Además, se debe definir un rango de proceso con una dosis mínima y máxima tolerables por el producto, en función de la dosis requerida por el cliente. De esta forma, la dosis absorbida mínima es la dosis establecida en la especificación del proceso de irradiación como la menor dosis capaz de lograr el efecto técnico deseado, por lo que, si el tratamiento estuviera incluido en un plan de análisis de peligros y puntos críticos de control (conocido como HACCP), representaría un punto crítico de control (PCC).

Por su parte, la dosis máxima es aquella que representa un límite con la que el objetivo de la irradiación se logra sin deterioro en la calidad del producto, lo que no se podría garantizar a dosis más elevadas (Fig. 16). Por lo tanto, se suele calcular el parámetro de Uniformidad de dosis como la relación entre la dosis máxima y mínima recibidas (Ecuación 2).

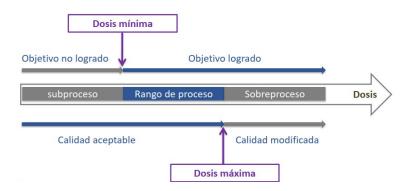


Fig. 16: Definición de rango de proceso, dosis mínima y dosis máxima, según objetivo de irradiación en el producto alimenticio.

$$Uniformidad\ de\ dosis = \frac{Dosis\ máxima\ recibida}{Dosis\ mínima\ recibida}$$
 Ecuación (2)

De esta manera, durante el proceso de irradiación, el producto recibe un gradiente de dosis uniforme a través de ambas caras, en el plano de proyección horizontal de la caja o pallet de producto expuestas a la fuente de rayos gamma, dado que el sistema de transporte rota (Fig. 17). La amplitud de dosis aumentará a mayor tamaño o densidad del material tratado.

En función de lo explicado la eficiencia óptima se alcanzaría cuando se hayan establecido correctamente el rango de dosis, la absorción de la energía a través del espesor del producto y el sistema de transporte para evitar sobre o subexposición.

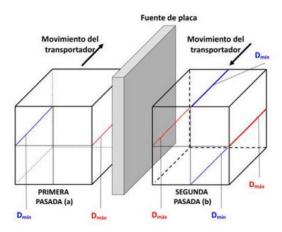


Fig. 17: Distribución típica de la dosis durante el proceso de irradiación. D_{min}: Dosis mínima; D_{máx}: Dosis máxima. *Fuente*: Manual de buenas prácticas para la irradiación de alimentos. Colección de Informes Técnicos n°481, IAEA, 2017.

La correcta medición y el consecuente control de la dosis de radiación absorbida por un alimento es un aspecto importante para asegurar su calidad y el cumplimiento de las regulaciones vigentes. Para la aplicación de los tratamientos de irradiación a nivel industrial, la autoridad competente exige que se disponga de controles que aseguren que los productos no hayan recibido más radiación que la autorizada. Para esto, se utilizan

dosímetros de control, que son pequeños dispositivos que se colocan a determinada distancia del alimento, o bien entre las cajas, si se trata de alimentos empaquetados. Los dosímetros pueden ser de tres tipos: líquidos, sólidos o calorimétricos. La elección de estos depende del tipo de radiación, del producto irradiado y del diseño del irradiador. En particular, los dosímetros sólidos son los más usados. En estas sustancias, la radiación induce la formación de radicales libres estables, que pueden ser cuantificados por espectroscopía de resonancia magnética. Los dosímetros sólidos más comunes en el mercado se producen a partir de películas finas de metacrilato de polimetilmetacrilato (PMMA), triacetato de celulosa y alanina, y se preparan en forma de varillas flexibles o de finas películas que pueden cortarse de la forma más conveniente. El de alanina está avalado por normas ISO (ISO/ASTM 51607:2004 "Practice for the use of the alanine-EPR dosimetry system") y es el que se utilizó en el presente trabajo de tesis.

1.6.6. Efectos de la irradiación sobre el agua, los microorganismos y los componentes de los alimentos

1.6.6.1. Generalidades

La radiación ionizante involucra procesos físicos, químicos y biológicos sobre la materia, de forma directa e indirecta (Fig. 18). Las radiaciones interaccionan con compuestos orgánicos e inorgánicos, generando excitaciones e ionizaciones electrónicas, constituyendo estas últimas el efecto preponderante cuando se aplican radiaciones ionizantes sobre la materia. De este modo, las radiaciones pueden quitar electrones de átomos o moléculas, las que quedarán con carga (ionizadas). Estas especies químicas suelen ser inestables, y logran reaccionar rápidamente con sus moléculas vecinas, excitándolas, recombinándose o produciendo fragmentaciones y reacciones exponenciales en cadena (Chiossi, 2019). Los cambios químicos generados pueden afectar a los componentes de los alimentos, así como a los átomos y moléculas que componen a las células de los organismos que están presentes. Por lo tanto, existen consecuencias biológicas a nivel de la actividad y la funcionalidad celular. Cabe aclarar que, a las dosis máximas permitidas según las legislaciones nacionales e internaciones, no hay ruptura de enlaces covalentes en las estructuras principales de los componentes (ALATI, 2020). Además, los núcleos atómicos de los componentes mayoritarios de los alimentos (tales como ¹H, ¹⁴N, ¹²C, ¹⁶O) son estables, por lo cual, no se origina ningún tipo de reacción nuclear radiactiva (Calzada & Cerecetto, 2019; Pachado, 2020). Para que exista dicho fenómeno, tomando de ejemplo al carbono, debería originarse el isótopo radiactivo del carbono (carbono-14 o ¹⁴C), y esto solo sucede a muy altas energías, como las generadas por rayos cósmicos de forma natural o por activación neutrónica de forma artificial (Libby, 1968).

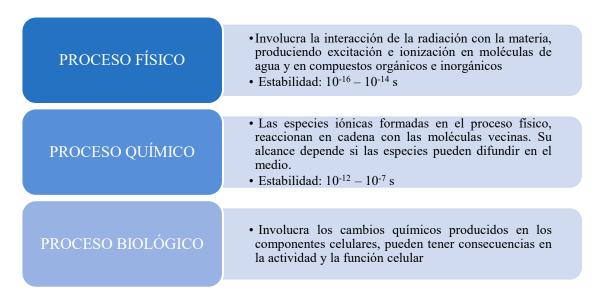


Fig. 18: Procesos físicos, químicos y biológicos involucrados durante la interacción de la radiación ionizante sobre la materia orgánica e inorgánica.

1.6.6.2. Radiólisis del agua

Las radiaciones ionizantes son capaces de originar una amplia serie de cambios químicos en la materia irradiada a través de los efectos directos e indirectos. En los **efectos indirectos**, el agua juega un rol de gran importancia, ya que, además de su capacidad generadora de iones y radicales libres -especies reactivas del oxígeno (ROS)- a través de procesos de ionización y radiólisis, constituye en promedio el 80% de la materia celular, y, por tanto, es un constituyente relevante de los alimentos (en el caso del durazno el agua constituye casi el 90% de su composición, según se detalla en la <u>Tabla 1</u>). Es sabido que los iones y radicales libres provocan múltiples reacciones entre sí o con el sustrato. En el caso del agua pura, la exposición a radiaciones ionizantes desencadena los siguientes procesos químicos:

$$H_2O \xrightarrow{rad} (H_2O)^+ + e^- \longrightarrow H^+ + OH \bullet + e^-$$
 Reacción (1)

De esta forma, se generan radicales hidroxilos (el punto indica el electrón desapareado), hidrogeniones y electrones secundarios (reacción 1). En una segunda etapa, se generan radicales hidrógeno nacientes, de gran poder reductor, así como iones hidroxilo (reacción 2).

$$e^- + H_2O \longrightarrow H_2O^- \longrightarrow H_0 + OH^-$$
 Reacción (2)

Además, la radiación provoca en la molécula de agua las siguientes reacciones:

$$H_2O \xrightarrow{rad} (H_2O)^* \longrightarrow H + OH$$
 Reacción (3)

$$OH \bullet + OH \bullet \longrightarrow H_2O_2$$
 Reacción (4)

$$H_2O_2 + OH \bullet \longrightarrow H_2O + HO_2 \bullet$$
 Reacción (5)

En la reacción 3, el asterisco indica excitación disociativa, es decir, electrones de valencia excitados, que pueden acabar produciendo la disociación del enlace (reacción 4), lo cual resulta en la formación de peróxido de hidrógeno, comúnmente conocido como agua oxigenada, de fuerte poder oxidante. El peróxido de hidrógeno sigue reaccionando con los radicales hidroxilos, para formar el radical hidroperoxilo, de naturaleza oxidante más enérgica (reacción 5).

De esta manera, se generan radicales y compuestos muy reactivos, aunque su vida media es muy corta (nanosegundos), (ALATI, 2020). En el caso de la irradiación de alimentos, los radicales libres y los compuestos formados a partir del agua tienen el tiempo suficiente para combinarse con otros componentes mediante reacciones de oxidación, adición y reducción, iniciando una serie de reacciones competitivas que dan lugar a cambios en los compuestos existentes, así como a la aparición de nuevos compuestos por recombinación de radicales.

En cuanto a los **efectos directos**, debe considerarse que la radiación puede actuar también directamente sobre los nutrientes de los alimentos, ionizándolos y rompiendo las moléculas, lo cual da lugar, como en el caso del agua, a radicales que se pueden combinar en forma distinta a la original.

Los compuestos que experimentan los cambios más significativos son las proteínas (incluyendo las enzimas), los carbohidratos, los lípidos y las vitaminas.

Otro factor que influye sobre la magnitud del efecto de la radiación es la presencia o ausencia de oxígeno durante la irradiación, dado que los agentes reductores formados por la radiólisis del agua pueden reaccionar con este compuesto, dando lugar a la formación de peróxido de hidrógeno (reacción 4). La cantidad generada de este peróxido altamente reactivo durante la irradiación depende de la concentración de oxígeno. En este sentido, el envasado en atmosferas modificadas puede ser útil para limitar el contenido y disponibilidad de oxígeno (Barkai-Golan & Follett, 2017; Shafiur, 2007).

1.6.6.3. Efecto de la irradiación sobre los microorganismos

Las radiaciones ionizantes afectan a los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) causándoles daños en el material genético de la célula y previniendo de manera efectiva la realización de los procesos biológicos necesarios para su existencia y desarrollo (Cap *et al.*, 2021; Murano, 1995). Al aplicar un tratamiento para tal fin, es necesario, por otra parte, conocer la estabilidad de los componentes de los alimentos para garantizar su funcionalidad y seguridad.

Al igual que lo explicado anteriormente para los alimentos, cuando la radiación ionizante es absorbida por cualquier material biológico, se producen efectos directos e indirectos (Fig. 19). En el primer caso, la radiación interacciona con el material genético y otros elementos celulares como proteínas y membranas, que son esenciales para la supervivencia de los organismos. En el material genético se producen rupturas de los enlaces puente hidrógeno en las uniones intercatenarias de las bases nitrogenadas que componen las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ribonucleico (ARN), por lo que el daño puede incluso causar la muerte de la célula, evitando su reproducción (Diehl, 2013). Este tipo de efecto predomina cuando se irradian microorganismos esporulados, con muy bajo contenido de agua.

Por otro lado, hay también un efecto indirecto, ya que la radiación interacciona con otros átomos y moléculas de la célula, entre ellos el agua, dando lugar a reacciones complejas, generándose también radicales libres, capaces de difundir hasta dañar los ácidos nucleicos. Este efecto es importante para las formas vegetativas de los microorganismos, cuyo citoplasma contiene alrededor de un 80% de agua (IAEA, 2007).

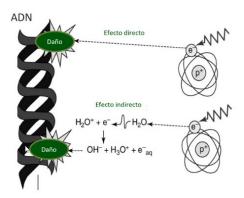


Fig. 19: Efectos directos e indirectos producidos por la interacción de la radiación ionizante sobre los ácidos nucleicos.

Si bien la irradiación puede dañar, como se mencionó, a estructuras como la membrana celular e inactivar enzimas, con la consecuente alteración de la actividad metabólica, el principal blanco de este tipo de tratamiento es el ADN (Loaharanu & Hallman, 2017). Así, se considera que una dosis de 0,1 kGy daña el 2,8% del ADN en células bacterianas, mientras que sólo afecta al 0,14% de las enzimas y al 0,005% de los aminoácidos (Rodríguez, 2002). De esta manera, se explica el hecho de que la radiación ionizante tenga un efecto letal sobre los microorganismos, sin causar cambios importantes en la composición química de los alimentos.

Al igual que para el caso de la destrucción térmica de microorganismos, en los tratamientos de irradiación se pueden también definir parámetros de inactivación, entre ellos la denominada dosis de reducción decimal " D_{I0} ", que es la que se requiere para destruir el 90% de la población microbiana, es decir, para reducir la población microbiana al 10% de la original. Si N_0 es el número inicial de microorganismos presentes y N el número que permanece después de una irradiación con una dosis D, la relación entre ellos es de orden logarítmico, según la ecuación 3:

$$\log \frac{N}{N_0} = -D \frac{1}{D_{10}}$$
 Ecuación (3)

Es importante mencionar que la sensibilidad ante la radiación ionizante varía según la clase de microorganismo. A su vez, dentro de una misma clase, cada especie presenta un D₁₀ diferente, cuyo valor se determina gráficamente mediante experimentación, y/o se puede obtener de bibliografía. Por ejemplo, las levaduras y los mohos son afectados en general por dosis de radiación menores a la de las bacterias y, dentro de este grupo, las levaduras son más resistentes que los mohos. Dentro de las bacterias, algunos géneros son más resistentes que otros (Murano, 1995). Por su parte, las esporas bacterianas son más resistentes que sus respectivas células vegetativas, en un factor de aproximadamente entre 5 y 15 (Barkai-Golan & Follett, 2017; Woese, 1959). El orden creciente de la resistencia de los microorganismos a la irradiación es el siguiente:

1.6.6.4. Efecto de la irradiación sobre las proteínas

Las proteínas están compuestas por cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, por lo que el estudio del efecto de la radiación sobre estas unidades componentes puede proveer información valiosa para entender los cambios inducidos en las moléculas de proteínas (Fernandes *et al.*, 2017; Gebicki & Nauser, 2022; Urbain, 1977). La estructura primaria de las proteínas no es afectada por la radiación, dado que los enlaces covalentes no sufren modificaciones a energías menores de 15 MeV. Sin

embargo, la radiación puede modificar la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas, respecto a la disposición espacial de la cadena y configuración tridimensional. Las uniones físicas débiles, del tipo puente hidrógeno o electrostáticas pueden sufrir rupturas, lo que repercutirá en la agregación y desnaturalización de las proteínas y, por consiguiente, en su funcionalidad. Como ejemplo de esta última podemos nombrar a la capacidad de retención de agua, la conducta reológica, la solubilidad, el comportamiento electroforético, la actividad de enzimas, y la reactividad inmunológica (Delincée, 1983; Shafiur, 2007).

Con respecto a las enzimas, éstas presentan una resistencia a la inactivación considerablemente mayor que los microorganismos. En general, se puede decir que la inactivación completa de las enzimas requiere una dosis 5 a 10 veces mayor a la requerida para la de los microorganismos (Graham, 1980; Rodacka *et al.*, 2016; Vojisavljevic *et al.*, 2010). A pesar de esta resistencia, es posible, a dosis bajas (< 1 kGy), reducir la actividad enzimática, de forma tal de inhibir procesos de alteración como el pardeamiento enzimático, y de esta forma, extender la vida útil de las frutas y hortalizas (Kim, 2010). Otra opción posible es inactivar las enzimas mediante tratamientos térmicos, antes del proceso de irradiación.

1.6.6.5. Efecto de la irradiación sobre los hidratos de carbono

Los carbohidratos forman parte de la mayoría de los alimentos. Al ser sustancias cristalinas, son sensibles a la radiación dependiendo de la dosis. Cuando esta última es baja (< 1 kGy), no suele haber ruptura de monómeros (ej. glucosa, fructosa y galactosa) (Djaeni, 2018); mientras que a dosis medias (1 – 10 kGy) y altas (> 10 kGy), se pueden generar productos como H₂, CO₂, aldehídos, cetonas, ácidos y otros carbohidratos (Adam, 1983; Dauphin & Saint-Lèbe, 1977; IAEA, 2016). En presencia de agua, las dosis medias y altas pueden provocar una degradación oxidativa debido a la acción directa e indirecta de la radiación. Por acción indirecta, los carbohidratos son atacados principalmente por radicales -OH. Estos radicales reaccionan predominantemente con el hidrógeno de los enlaces C – H, formando H₂O (reacción 6):

A su vez, los radicales resultantes reaccionan posteriormente a través de mecanismos de dimerización y deshidratación, produciendo ácidos, cetonas y aldehídos. En presencia de oxígeno, la irradiación de hidratos de carbono provoca, además, reacciones secundarias.

En cuanto a los oligosacáridos, las dosis medias y altas pueden formar monosacáridos y productos similares a aquellos obtenidos por la irradiación de azúcares simples. Por su parte, incluso a dosis bajas, los polisacáridos de alto peso molecular pueden degradarse debido al clivaje de la unión glicosídica, formándose unidades menores de carbohidratos como glucosa o maltosa (Shafiur, 2007).

En frutas y hortalizas puede producirse el ablandamiento y la pérdida de textura a través de la ruptura de los materiales de la pared celular, como las pectinas y celulosas (Cova, 2021). Este ablandamiento puede ser beneficioso, por ejemplo, aumentando el rendimiento de extracción de jugo, y/o disminuyendo los tiempos de secado y de cocción en los productos deshidratados.

1.6.6.6. Efecto de la irradiación sobre los lípidos

La irradiación puede generar la liberación de ácidos grasos por ruptura de uniones éster. Además, puede acelerar los procesos normales de auto-oxidación de las grasas, produciendo un incremento de *off-flavors*, particularmente los relacionados con la rancidez. Estos procesos pueden enlentecerse en un alimento eliminando el oxígeno mediante el envasado al vacío o en atmósferas modificadas aplicados previos a la irradiación (Tomac *et al.*, 2015). A dosis bajas de radiación, los lípidos no presentan una tasa de degradación importante, por lo que no se observan diferencias en las determinaciones relacionadas con este tipo de alteración, como el índice de yodo, la intensidad del color y olor en distintos alimentos, harinas, cereales y especias (Shafiur, 2007). Sin embargo, para alimentos con alto contenido lipídico, como productos cárnicos o lácteos, se recomienda el uso de generadores de haces de electrones para evitar las reacciones de oxidación de las grasas.

1.6.6.7. Efecto de la irradiación sobre las vitaminas

La estabilidad de las vitaminas frente a la radiación es importante cuando se analizan los aspectos nutricionales de los alimentos irradiados. Algunas vitaminas son consideradas sensibles a la radiación ionizante (Xue *et al.*, 2019). Si bien un medio complejo como el que existe en los alimentos reduce su sensibilidad a la radiación, cabe aclarar que las dosis

usadas y las condiciones de irradiación pueden, en gran parte, alterar su estabilidad (Basson, 1983; Dionísio *et al.*, 2009).

La amplia variedad de estructuras químicas de las vitaminas determina que el efecto de la radiación presenta también una gran variabilidad, dependiente de cada vitamina en particular. Así, entre las vitaminas solubles en agua, la vitamina B1 (tiamina) es la más sensible. Otra de este grupo, la vitamina C o ácido ascórbico, también es sensible a la radiación, formando, entre otros productos, el ácido dehidroascórbico (Simic, 2018). Sin embargo, estas vitaminas son bastante estables a la irradiación a bajas dosis (Narvaiz & Ladomery, 1999). Otras vitaminas hidrosolubles sensibles a la radiación son las vitaminas B2 (riboflavina), B12 (cianocobalamina) y la biotina. Entre las vitaminas liposolubles, la vitamina E es la más radiosensible, mientras que la vitamina D es la que presenta una mayor estabilidad. La vitamina A es también relativamente sensible, debido a que su actividad disminuye por isomerización cis-trans.

1.6.7. Campos de aplicación

Entre los diversos usos potenciales de la irradiación en alimentos, las aplicaciones más prometedoras son la descontaminación, la desinfestación y la conservación de la calidad de los productos alimenticios para prolongar su vida útil. A continuación, se detallan dichas aplicaciones.

1.6.7.1. Desinfección y preservación

La irradiación gamma es eficaz para desinfectar frutas reduciendo su carga microbiológica y prolongando su vida útil. Por ejemplo, en uvas de mesa, una dosis de 1,0 kGy demostró su eficacia para reducir inóculos de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* en más de un 90% (Jeong *et al.*, 2019). En frutillas, la exposición a 1,0 kGy fue capaz de eliminar bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (reducciones de 4 log UFC/g), garantizando la inocuidad del producto (Mazzotta & Beuchat, 2017). Otro estudio informó que una dosis de radiación optimizada de 0,5 kGy inhibió un 40% el crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarinas, ralentizando la tasa de descomposición de la fruta (Zhao *et al.*, 2020). En frutas de carozo como duraznos y ciruelas, una dosis de irradiación de 1,5 kGy inactivó bacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* (reducción de 4 y 4,5 log UFC/g, respectivamente), reduciendo el riesgo de enfermedades transmitidas por los alimentos (Alam *et al.*, 2018). Otro estudio informó del uso de la irradiación (1,0 kGy) como tratamiento de intervención para

inactivar *Escherichia coli O157:H7* (reducción de 3 log UFC/g) en jugo de manzana recién extraído (Fernandes & Prakash, 2020). En arándanos, se utilizó la irradiación (1,5 kGy) para reducir los niveles de *Salmonella spp.* (reducción de 5 log UFC/g), garantizando la seguridad de la fruta para el consumo (Sanyal *et al.*, 2016).

1.6.7.2. Control de insectos y plagas

La irradiación gamma es una herramienta útil para el control de insectos y plagas en productos frutícolas. En frutas como las naranjas, una dosis de irradiación de 0,15 kGy eliminó eficazmente larvas y huevos de moscas de la fruta como la *Ceratitis capitata*, sin causar daños a los tejidos (Damos *et al.*, 2018). En papayas, esta tecnología (en dosis de 0,15 kGy) se ha empleado para prevenir la proliferación de moscas de la fruta como *Bactrocera dorsalis*, evitando daños y conservando una adecuada calidad de la fruta (Akami *et al.*, 2016).

1.6.7.3. Retraso de la maduración

La irradiación gamma se aplica para retrasar el proceso de maduración en frutas como en plátanos y bananas. La irradiación en dosis de 1,0 kGy en bananas verdes consiguió inhibir un 23% la producción de etileno y la consiguiente formación de compuestos volátiles, retrasando el proceso de maduración. Esto permitió alargar el periodo de almacenamiento y transporte (Bialek *et al.*, 2020). Mediante la irradiación de mangos en dosis de 0,25 kGy se redujo un 9% la producción de etileno y de enzimas responsables del ablandamiento, alargando la vida útil y manteniendo la calidad de la fruta (Wu *et al.*, 2018).

1.6.7.4. Reducción de las pérdidas poscosecha

La irradiación gamma contribuye a reducir las pérdidas poscosecha de las frutas. En mangos, por ejemplo, una dosis de 1,0 kGy disminuyó la tasa de pérdida de peso y mantuvo constante los parámetros de firmeza, color y contenido de azúcar del producto durante el almacenamiento (Kan *et al.*, 2019). En uvas de mesa, la irradiación a 1,0 kGy evitó el ablandamiento de la fruta durante el almacenamiento (Jaiswal & Moon, 2020). Una de las principales ventajas de la irradiación es que los alimentos tratados a dosis bajas mantienen sus características organolépticas, y no modifican significativamente su composición nutricional, manteniendo un aspecto natural y similar al fresco (Fig. 20), (CNEA, 2020).



Fig. 20: Alimentos tratados con radiación ionizante (CNEA, 2020).

1.6.7.5. Mejora en la calidad de FyHMP

En el caso de los productos mínimamente procesados, la irradiación también puede ser útil para su conservación (McDonald *et al.*, 2012). El principal mérito de emplear esta tecnología no térmica reside en su probada eficacia para mantener la calidad e inocuidad del producto, preservando varios compuestos asociados a atributos de calidad como pigmentos, nutrientes, compuestos bioactivos y *flavor* típico (Eustice, 2020). Cuando se aplica en dosis optimizadas, la irradiación gamma ha demostrado su eficacia para mejorar los atributos texturales de las FyHMP (Wang & Meng, 2016), aumentando su capacidad antioxidante (Lires *et al.*, 2018) y previniendo trastornos fisiológicos mediante la inhibición de la actividad de las enzimas polifenoloxidasa (PPO) y peroxidasa (POD). Las actividades de estas enzimas están estrechamente asociadas a los procesos de deterioro que conducen al pardeamiento (Fan, 2013; Xuetong, 2012).

1.6.7.6. Cumplimiento de la normativa fitosanitaria

La irradiación gamma se ha utilizado para cumplir la normativa fitosanitaria en el comercio internacional de frutas con fines cuarentenarios. En mangos, la irradiación se empleó para controlar plagas como la mosca de la fruta y cumplir los requisitos de exportación a determinados países (Manoukis *et al.*, 2021). En lichis, se aplicaron dosis de irradiación de 0,25 kGy para controlar la mosca oriental de la fruta, *Bactrocera dorsalis*, garantizando el cumplimiento de los requisitos de exportación (Chinajariyawong *et al.*, 2018). De esta forma, esta tecnología tiene un potencial prometedor en los países en desarrollo, donde los alimentos suelen sufrir alteraciones durante la poscosecha debido a deficiencias en la infraestructura.

1.6.8. Limitaciones y proyección futura sobre el uso de irradiación

Es sabido que la implementación exitosa de una tecnología depende en gran medida de la disponibilidad de una infraestructura adecuada (Loaharanu, 1995). En este sentido, una de las limitaciones de la irradiación es el hecho de requerir altos costos de capital, una

capacidad crítica mínima y un cierto volumen de producto para que la operación sea económicamente factible (ALATI, 2020; Spiller, 2004; Urbain, 1982), aunque en contraposición presenta la ventaja de su bajo costo operativo (4-4,5 US\$/Curie, actualizado a septiembre 2022), y mínimos requerimientos energéticos (ALATI, 2022).

Autores como Eustice (2020) y Sahoo et al. (2023) mencionan como una desventaja una mayor difusión del uso de la irradiación en frutas y hortalizas, que la misma representa un tipo de tratamiento cuyo resultado final depende de diversos factores, lo cual genera una alta variabilidad, haciendo difícil su estandarización. Así, el éxito del tratamiento dependerá de poder establecer y controlar aspectos como el cultivar, la dosis de radiación, el grado de madurez, el estado fisiológico de las frutas, la temperatura y atmósfera durante y después del tratamiento, los tratamientos previos y posteriores a la cosecha, pero también de la susceptibilidad de los microorganismos presentes en el producto. Entre estos factores, se ha demostrado que la tolerancia del producto a la irradiación cambia significativamente con el grado de madurez. Además, la condición fisiológica de la fruta cambia continuamente con las lesiones mecánicas y la humedad en el momento de la cosecha. Por lo tanto, resulta dificil predecir la respuesta de cada lote individual de frutas como para poder establecer niveles de dosis generalizadas. Este es, sin dudas, uno de los grandes desafíos para que los tratamientos de irradiación puedan utilizarse de manera más extendida, para lo cual es necesario la realización de un mayor número de investigaciones que aborden estos aspectos.

Por otra parte, la actitud de los consumidores ante la irradiación está experimentando un cambio positivo, en virtud del desarrollo de resistencia de los patógenos a varios fungicidas, de la retirada de algunos aditivos del mercado, y del creciente deseo del consumidor de acceder a productos mínimamente procesados y libres de residuos y aditivos. En función de esto, en la actualidad se considera a esta tecnología como promisoria para mejorar la calidad de productos frescos con un mínimo procesamiento. Sin embargo, su aceptación enfrenta todavía una cierta oposición por parte de un sector de la opinión pública (Castell-Perez & Moreira, 2021; Jankuloski *et al.*, 2022). Este fenómeno podría deberse a factores económicos y logísticos, aunque también a problemas psicológicos, asociados al temor a la misma, como resultado en gran medida de la falta de conocimiento público sobre la inocuidad de los alimentos irradiados. El hecho de que se utilicen para la irradiación de alimentos los mismos términos que para actividades nucleares, con frecuencia condujo a la desconfianza de los consumidores (Sommers *et*

al., 2013). Así, a menudo, los consumidores confunden a los alimentos irradiados con alimentos radiactivos (Mostafavi et al., 2012).

En consecuencia, sería necesario un mayor nivel de difusión sobre la seguridad del procedimiento de irradiación, así como de los beneficios comprobados de su aplicación en alimentos. Esto podría aumentar la comprensión del público, y conducir a una mayor aceptación de los productos irradiados (Byron, 2011; Cia et al., 2010). En este sentido, se han propuesto algunas iniciativas, entre las que se puede mencionar a la elaboración de programas educativos y presentaciones audiovisuales que contribuirían a un mejor conocimiento y actitud de los consumidores, influyendo positivamente sobre la decisión de compra (Pohlman et al., 1994).

Se estima que los principales factores que contribuirán a una aplicación más generalizada de esta tecnología, así como a su factibilidad económica, son: la investigación y el desarrollo de nuevas aplicaciones; la armonización de las legislaciones; el compromiso de la industria alimentaria; la actitud del consumidor; y la solución de cuestiones económicas y logísticas asociadas a su utilización. Es importante considerar que, de manera similar a lo que ocurre con el uso de técnicas de ingeniería genética para la producción de alimentos, es esencial que la educación del consumidor y el compromiso de los profesionales sean una parte integral de los desarrollos futuros, junto al avance en la factibilidad de aplicación industrial de las nuevas tecnologías.

Argentina ha sido pionera y es considerada internacionalmente como un referente en esta temática. En la actualidad, se propone avanzar con la reglamentación oficial y la fiscalización de las normas y procesos, con el fin de posibilitar el comercio internacional, proteger la salud de la población y disminuir la pérdida y el desperdicio de alimentos. De esta manera, se pretende optimizar los recursos disponibles mediante proyectos de cooperación bilateral, con participación del IAEA, siendo esto fundamental para el desarrollo del capital humano y la gestión del conocimiento. Mientras tanto, los científicos de la CNEA, junto a INTA, Universidades Nacionales y otras Instituciones, continúan con diferentes líneas de investigación en marcha y, entre los proyectos en desarrollo, se espera presentar en el corto plazo una nueva propuesta a la CONAL incrementando el listado de alimentos permitidos, tales como miel, alimentos para pacientes hospitalizados, huevo líquido, entre otros a definir (CNEA, 2020).

2. OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El *objetivo general* del trabajo fue profundizar los conocimientos científicos y tecnológicos que permitan entender mejor el efecto de aplicación de tecnologías emergentes no térmicas de conservación, seleccionando como modelo a la irradiación gamma, que será el eje conductor de esta tesis, sobre distintos parámetros bioquímicos, nutricionales y sensoriales en frutas mínimamente procesadas, en particular sobre duraznos, en relación a diversos factores como la aptitud varietal y los tratamientos tecnológicos durante su procesamiento, para llegar a la obtención de un producto final con alta aceptabilidad y calidad nutricional, y vida útil extendida.

La propuesta del trabajo tiene la finalidad de ofrecer a los consumidores una alternativa comercial saludable, que favorezca el consumo de frutas con características nutricionales similares a una fruta fresca, habida cuenta de la brecha existente entre el consumo real diario de frutas y hortalizas, y las recomendaciones de la FAO/OMS.

Se estima que esto favorecerá la exportación de un producto de alto valor agregado, y/o la llegada a poblaciones con necesidades especiales y nutricionales insatisfechas (comunidades de zonas remotas o de difícil acceso).

2.2. Objetivos específicos

Para cumplir con dicho objetivo general se plantearon los siguientes *objetivos específicos*:

- 1. Definir y optimizar un sistema experimental representativo del proceso de elaboración de duraznos mínimamente procesados, adaptado a la aplicación de un tratamiento de irradiación gamma como barrera de preservación.
- 2. Estudiar los aspectos de calidad fisicoquímicos y bioquímicos subyacentes asociados al procesamiento por irradiación gamma de duraznos mínimamente procesados (parámetros de calidad, aspectos sensoriales, microestructura, viabilidad del tejido, actividad de enzimas claves asociadas al pardeamiento enzimático y alteración del producto, capacidad antioxidante, metabolismo de azúcares y ácidos orgánicos).
- 3. Optimizar mediante la determinación del parámetro de proceso adecuado (nivel de dosis) al tratamiento de irradiación gamma que, aplicado a duraznos mínimamente procesados, permita evaluar las bases fisiológicas de protección por estrés, en particular

la inducción de proteínas de estrés de bajo peso molecular, con el mínimo efecto sobre los parámetros de calidad.

4. Determinar la aptitud de diferentes variedades de durazno para el procesamiento mínimo y para el tratamiento de éstas por irradiación gamma sobre la calidad del producto final y validar los parámetros del proceso de irradiación establecidos como óptimos.

3. MATERIALES y MÉTODOS





3. MATERIALES Y MÉTODOS

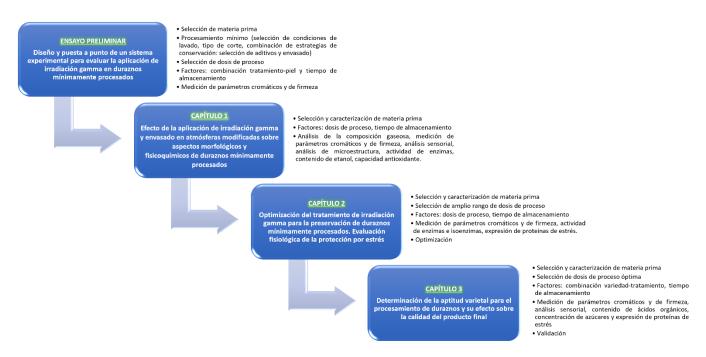


Fig. 21: Organización de los capítulos, estrategias utilizadas, diseño de ensayos y determinaciones analíticas desarrolladas en la presente tesis.

La estrategia utilizada para encarar el estudio de la presente tesis se resume en el diagrama de la Figura 21. En primer lugar, se diseñó un modelo experimental apropiado, para lo cual se seleccionó la materia prima a utilizar y se estableció la forma de caracterizarla. Se definió, además, el proceso de elaboración de duraznos mínimamente procesados que mejor se adecuaba a la aplicación de irradiación gamma como una de las barreras de preservación del producto, probándose a continuación la eficacia de esta tecnología en combinación con el envasado en atmosferas modificadas. Una vez estudiado su efecto, se optimizaron las condiciones del procesamiento. Posteriormente se profundizó el estudio a través de la evaluación de distintos aspectos bioquímicos y morfológicos de relevancia, a fin de comprender mejor el efecto de los tratamientos sobre la calidad del producto. Paralelamente, se fueron incorporando a los ensayos diferentes parámetros, con el fin de determinar con más detalle tanto las características del producto como para establecer y evaluar la respuesta fisiológica al estrés inducido por las tecnologías. Este último aspecto resultó de utilidad para comparar la aptitud para el procesamiento de distintas variedades de duraznos.

3.1. Materia prima y procesamiento

3.1.1. Material vegetal

Se utilizaron variedades de duraznos (*Prunus persica* L. Batsch) provenientes de cultivos experimentales (temporadas 2018–2019/ 2019–2020/ 2021–2022) de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA San Pedro (Ruta 9, km 170, San Pedro, Buenos Aires - Latitud 33°41 S, Longitud 59°41 W). Para minimizar la variabilidad debido a la gran cantidad de factores que influyen sobre las características de una fruta al ser cosechada, se tomó especial cuidado en que los duraznos utilizados en los distintos ensayos fueran recolectados en un mismo momento de cosecha y provengan del mismo lote. Las frutas fueron seleccionadas de acuerdo con su tamaño, firmeza al tacto y color de fondo. El área de plantación fue de 3,5 m x 5 m. El manejo sanitario y la fertilización fueron similares a los que se realizan habitualmente en las producciones agrícolas comerciales de la zona.

La elección de las variedades estuvo sujeta a la temporada y a la disponibilidad en la Estación Experimental, por lo que también se utilizaron duraznos de otros productores y empacadores de la zona.

Todos los reactivos químicos empleados en este trabajo de investigación fueron de calidad analítica, excepto los utilizados para la determinación de ácidos orgánicos que fueron de calidad HPLC (*High pressure liquid chromatography*), es decir purificados para su uso en cromatografía líquida de alta resolución.

3.1.2. Procesamiento mínimo

Luego de la cosecha, los duraznos seleccionados fueron trasladados desde la EEA San Pedro hasta la planta piloto del Instituto Tecnología de Alimentos (ITA) del Centro de Investigación de Agroindustria (CIA) del INTA, en donde fueron almacenados hasta el momento del procesamiento en cámaras modulares refrigeradas a 0 °C y 90% de humedad relativa, por 24 h.

Los duraznos fueron lavados con agua corriente con el agregado de una solución acuosa de 200 ppm de HClO para remover cualquier impureza y desinfectar la superficie, y luego enjuagados únicamente con agua. Posteriormente, las frutas se cortaron en dos mitades entre la epidermis y el carozo, con un cuchillo de filo liso de cerámica de 7" (Cuchillo

Accurato Ceramic, Design Collection, Tramontina) y, finalmente, las mitades fueron cortadas en rodajas con piel (15 mm de espesor aproximadamente).

Las rodajas fueron luego tratadas por inmersión con una solución acuosa de 20 ppm de HClO para desinfectar su superficie (2 min) y, a continuación, con una solución acuosa antioxidante conteniendo 1% de ácido ascórbico y 0,5% de ácido cítrico (2 min), para prevenir el pardeamiento superficial y eliminar el HClO remanente. Las rodajas fueron escurridas, distribuidas al azar y acondicionadas en bandejas plásticas de tereftalato de polietileno (PET) a razón de 8 rodajas por bandeja, y envasadas a presión atmosférica en bolsas constituidas por film "Cryovac BB2620" de baja permeabilidad a los gases (tasa de transmisión de O₂ 6–14 cm³/m²/24 h a 22–24 °C y a 0% HR, 1 atm). Posteriormente, las bolsas fueron selladas por una termoselladora manual de bolsas plásticas (PFS Manual plastic film sealer, model SF 300, China). A continuación, se muestran imágenes de las etapas correspondientes al procesamiento mínimo, (Fig. 22).



Fig. 22: Operaciones generales del procesamiento mínimo de los duraznos: (A) Selección y desinfección de duraznos; (B) Cuchillo utilizado para el procesamiento, inmersión en soluciones antioxidantes y materiales utilizados para el envasado; (C) Acondicionamiento en bandejas y termoselladora utilizada para sellar los envases.

3.1.3. Tratamiento de irradiación gamma

Las bandejas fueron divididas en distintos lotes y colocadas en cajas de cartón corrugado de 300 x 400 x 500 mm, listas para irradiar (Fig. 23). Un lote de cada ensayo se dejó sin tratar, para utilizarse como control.



Fig. 23: Cajas de cartón con muestras dispuestas en bandejas, listas para irradiar

El tratamiento de irradiación de los duraznos se llevó a cabo en la Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) del Centro Atómico Ezeiza (Ezeiza, Buenos Aires), perteneciente a la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). PISI cuenta con una capacidad nominal de 1 MCi y se encuentra certificada por su Sistema de Gestión de Calidad según norma ISO 9001:2015 (n.º registro: AR-QS-5323), cuyo alcance comprende el servicio de irradiación con radiación gamma de productos y materias primas, en escala industrial y pre-industrial (Centro Atómico Ezeiza, 2022).

Los lotes fueron trasladados hasta la CNEA, en donde se sometieron a distintas dosis de irradiación según cada ensayo propuesto, modificando como parámetro de proceso el tiempo de exposición ante una fuente de energía ionizante del tipo rayos gamma, generados a partir del radioisótopo Cobalto-60 (⁶⁰Co), (Fig. 24). El dosímetro que se empleó durante el proceso fue a base de películas de alanina. Como ejemplo, se presenta el informe de dosimetría de CNEA de uno de los ensayos realizados, en el que se detallan el dosímetro empleado, la dosis solicitada, la posición y rotación de la plataforma de irradiación, el tiempo de proceso, la uniformidad y tasa de dosis, y la dosis mínima y máxima aplicadas para cada muestra ensayada (Fig. 25).



Fig. 24: Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) del Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA).

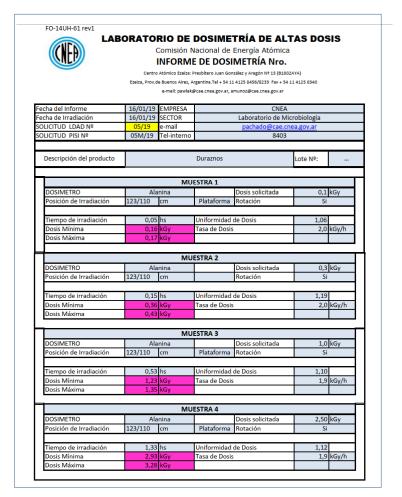


Fig. 25: Informe de dosimetría, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Ezeiza.

Adicionalmente, para corroborar que el tratamiento de irradiación gamma no produzca un aumento significativo de la temperatura en el producto durante el proceso (*ver sección 1.6.5.*), se colocó un dispositivo *data logger* registrador de temperatura insertado dentro del durazno, con el fin de medir y mapear el rango de temperaturas registrado durante el proceso (Fig. 26).



Fig. 26: Data logger, registrador de temperatura, insertado dentro del durazno.

Una vez que los lotes fueron irradiados, se trasladaron el mismo día de regreso a la planta piloto del ITA-INTA.

3.1.4. Almacenamiento

Luego del procesamiento mínimo (realizado a 8 °C), los lotes fueron almacenados a 0 °C por un período menor a 24 h hasta la posterior aplicación de los tratamientos. Los lotes con bandejas a irradiar fueron trasladados a CNEA (Ezeiza) en contenedores con geles refrigerantes. A su arribo de regreso al Instituto de Tecnología de Alimentos, los lotes irradiados fueron almacenados a 4 °C. Esta temperatura fue seleccionada con el fin de simular condiciones de refrigeración convencionales en establecimientos comerciales y en ambientes domésticos.

Se realizaron muestreos en 3 tiempos de almacenamiento a 4 °C (0 -inicial-, 7 y 14 días), con el fin de llevar a cabo las evaluaciones analíticas propuestas y ver el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las distintas variables.

Tanto para los ensayos de calidad (parámetros cromáticos y de firmeza) como para el análisis sensorial, las muestras se analizaron directamente los días de muestreo, mientras que, para los ensayos bioquímicos y fisiológicos, estas se congelaron de manera criogénica con N₂ líquido y se almacenaron a -40 °C, hasta el momento de las determinaciones.

A continuación, se resume el flujo de proceso de elaboración de duraznos mínimamente procesados, tal como fuera descripto en las secciones anteriores (Fig. 27).

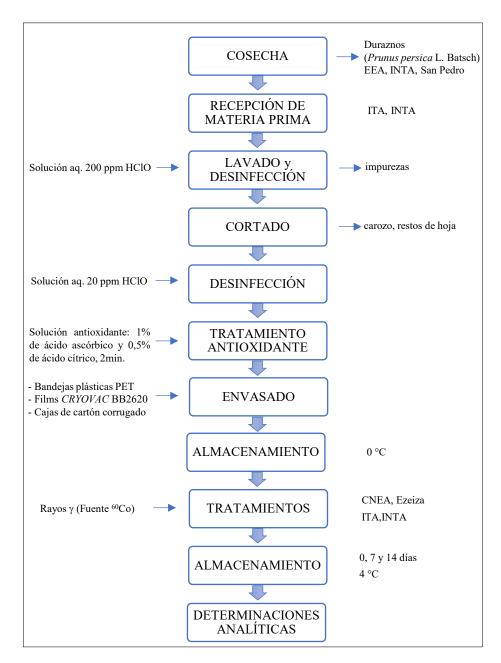


Fig. 27: Diagrama de elaboración de duraznos mínimamente procesados

3.2. Ensayos realizados

Para los ensayos propuestos a continuación se aplicó un diseño totalmente aleatorizado, considerando cada bandeja como una unidad experimental (a razón de 8 rodajas de durazno por bandeja), (Fig. 28). Las evaluaciones de calidad (parámetros cromáticos y de firmeza) se realizaron en 2 bandejas (réplicas), utilizando un total de 16 rodajas para cada combinación de dosis de tratamiento y tiempo de almacenamiento, mientras que, para las determinaciones bioquímicas y fisiológicas, se utilizaron 3 bandejas de muestras. Las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado (repeticiones). Para el caso de los

ensayos que incluyeron un análisis sensorial, se utilizaron 2 bandejas de muestras adicionales por cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

Para determinar el grado de significancia de las diferencias entre tratamientos, los resultados se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), usando el procedimiento *General Linear Model* (GLM) del programa estadístico SAS (SAS *Institute*, 1990). Cuando se verificaron diferencias significativas sin interacciones, la separación de medias fue realizada por las pruebas *post hoc* de Tukey y LSD (*Least Significant Difference*), (Snedecor y Cochran, 1989), con un nivel de significancia del 95% (*Ver sección 3.3.13*.).



Fig. 28: Unidad experimental: bandeja con 8 rodajas de durazno

3.2.1. Ensayo preliminar. Diseño y puesta a punto de un sistema experimental para evaluar la aplicación de irradiación gamma en duraznos mínimamente procesados

3.2.1.1. Material vegetal

Se utilizaron tres variedades de duraznos (*Prunus persica* L. Batsch): cv. RS55, Ruby Prince y June Gold, procedentes de la EEA INTA San Pedro. Las frutas fueron seleccionadas de acuerdo con su tamaño, firmeza al tacto y color de fondo.

3.2.1.2. Determinaciones realizadas

Parámetros cromáticos y de firmeza

3.2.1.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental

Las muestras para este ensayo fueron preparadas de manera similar al resto de los ensayos (sección 3.1.2.), con la excepción del envasado, para el cual se utilizaron bandejas de poliestireno expandido (telgopor) planas con una permeabilidad al vapor de H₂O de 99 g/m².24 h medida a 23 °C y 5% HR. Las bandejas fueron envasadas con bolsas de grado alimenticio compuestas por 70% de resina de policloruro de vinilo (PVC), de 9 μm espesor, con una permeabilidad a los gases mayor a la que finalmente fue adoptada en ensayos posteriores (tasa de transmisión de O₂ 1536 cm³/m².24 h y al CO₂ de

3690 cm³/m².24 h a 22–24 °C, 1 atm, 0% HR). Las bandejas fueron divididas en 3 lotes, dos de los cuales fueron sometidos a tratamientos de irradiación gamma en dosis de 0,5 kGy y 1,0 kGy, respectivamente, y el restante no fue sometido a ningún tratamiento (control). Además, para decidir si incluir o no una etapa de pelado en el procesamiento de los duraznos, todos los tratamientos se evaluaron en rodajas con y sin piel, obteniendo estas últimas al pelar los duraznos previamente a realizar el corte.

Para cada variedad, se estableció un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores (6x3): combinación tratamiento-piel (0 kGy sin piel, 0 kGy con piel, 0,5 kGy sin piel, 0,5 kGy con piel, 1,0 kGy sin piel, 1,0 kGy con piel) y tiempo de almacenamiento a 4 °C en tres niveles (0, 7 y 14 días).

3.2.2. Capítulo 1: Efecto de la aplicación de irradiación gamma y envasado en atmósferas modificadas sobre aspectos morfológicos y fisicoquímicos de duraznos mínimamente procesados

3.2.2.1. Material vegetal

Se utilizaron dos variedades de duraznos (*Prunus persica* L. Batsch): cv. Forastero y Ruby Prince procedentes de la EEA INTA San Pedro, cosechados en diferentes estadios de maduración, los cuales presentaron firmezas promedio de 48 N y 35 N, respectivamente.

3.2.2.2. Determinaciones realizadas

Además del registro de temperatura del proceso, se realizó el análisis de la composición gaseosa del envase, y de distintos parámetros cromáticos y de firmeza. Además, se realizaron evaluaciones sensoriales, análisis de microestructura por microscopía óptica, determinación de: la actividad de las enzimas polifenoloxidasa (PPO), peroxidasa (POD) y alcohol deshidrogenasa (ADH); del contenido de etanol y fenoles totales; y de la capacidad antioxidante por tres métodos diferentes: el conocido como *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), el del radical *1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) y el del radical *2,2-Azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid* (ABTS).

3.2.2.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental

Los duraznos mínimamente procesados fueron obtenidos según se describiera anteriormente (*sección 3.1.2.*). A partir de este ensayo, se adoptó el envasado en bandejas plásticas de PET y bolsas compuestas de films *Cryovac BB2620* de baja permeabilidad a los gases (tasa de transmisión de O₂ 6–14 cm³/m².24 h a 22-24 °C, 1 atm y 0% HR), las

cuales generaron una atmosfera modificada pasiva dentro del envase. Las bandejas fueron divididas en 2 lotes, uno de los cuales fue tratado con una dosis de irradiación gamma de 1,0 kGy y el restante no fue sometido a ningún tratamiento de irradiación (control).

Para cada variedad, se aplicó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores (2x3): tratamiento en 2 niveles (0 y 1,0 kGy) y tiempo de almacenamiento a 4 °C en 3 niveles (0, 7 y 14 días).

3.2.3. Capítulo 2: Optimización del tratamiento de irradiación gamma para la preservación de duraznos mínimamente procesados. Evaluación fisiológica de la protección por estrés

Es importante mencionar que, en el presente capítulo, los tratamientos de irradiación gamma fueron aplicados en las condiciones recomendadas por bibliografía para productos similares. Luego, se optimizó la dosis empleada por métodos estadístico-matemáticos.

3.2.3.1. Material vegetal

Se utilizó la variedad de duraznos (*Prunus persica* L. Batsch): cv. Granada, procedentes de la EEA INTA San Pedro, cosechados con una firmeza promedio de 28 N. La pulpa firme de esta variedad determina su aptitud para utilizarse a nivel industrial, por ejemplo, para elaborar conservas de duraznos enlatados.

3.2.3.2. Determinaciones realizadas

Parámetros cromáticos y de firmeza, actividad de enzimas e isoenzimas (PPO y POD), expresión de proteínas de estrés.

3.2.3.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental

Los duraznos mínimamente procesados fueron obtenidos según se describiera anteriormente (sección 3.1.2.). Las bandejas fueron divididas en 5 lotes, uno de los cuales no fue sometido a ningún tratamiento (control). Los 4 lotes restantes fueron sometidos a tratamientos de irradiación gamma a distintas dosis: 0,1 kGy, 0,3 kGy, 1,0 kGy y 2,5 kGy, respectivamente. En la Tabla 4 se detalla: la descripción de los tratamientos aplicados, el tiempo de irradiación según la dosis aplicada y la relación entre la dosis mínima y máxima utilizadas.

Tabla 4: Descripción de los tratamientos de irradiación gamma y los parámetros dosimétricos aplicados a los duraznos mínimamente procesados.

Tratamientos de irradiación gamma						
Dosis solicitada (kGy)	Dosis mínima (D _{mín})	Dosis máxima (D _{máx})	Relación D _{máx} /D _{mín}	Tiempo de irradiación (h)	Tasa de dosis (kGy/h)	
0 (Control)			-			
0,1	0,16	0,17	1,06	0,05	2,0	
0,3	0,36	0,43	1,19	0,15	2,0	
1,0	1,23	1,35	1,10	0,53	1,9	
2,5	2,93	3,28	1,12	1,33	1,9	

De esta forma, se estableció un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores (5x3): tratamiento en 5 niveles (0, 0,1, 0,3, 1,0 y 2,5 kGy) y tiempo de almacenamiento a 4 °C en 3 niveles (0, 7 y 14 días).

3.2.4. Capítulo 3: Determinación de la aptitud varietal para el procesamiento de duraznos y su efecto sobre la calidad del producto final

El siguiente capítulo se enfoca en la aplicación de la dosis óptima de irradiación gamma para optimizar la preservación de los duraznos mínimamente procesados, teniendo en cuenta los resultados previos. Para tal fin, se utilizaron distintas variedades de durazno, para establecer el efecto varietal ante la dosis seleccionada. Además, se utilizaron métodos estadísticos multivariados, en particular algoritmos de aprendizaje no supervisado, para realizar un análisis complejo de los resultados, cuya finalidad fue detectar patrones y tendencias en los parámetros de calidad estudiados de las distintas variedades y, por consiguiente, la identificación de grupos o clústeres con características similares, capaces de adaptarse a los tratamientos no térmicos aplicados.

3.2.4.1. Material vegetal

Se utilizaron 4 variedades de duraznos (*Prunus persica* L. Batsch): cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette. Flordaking y Early Grand fueron procedentes de EEA INTA San Pedro; mientras que Dixiland y Fayette fueron procedentes de lotes comerciales de la empresa Productores y Empacadores Agrícola Sol Naciente S.R.L., San Pedro. En la Tabla 5 se describen los índices de cosecha determinados en campo a partir de 15 muestras representativas de cada variedad de duraznos.

Tabla 5: Determinación de índices de cosecha de distintas variedades de duraznos en campo (n = 15 para cada variedad).

	Índices de cosecha						
Variedad	Peso	Firmeza	Sólidos solubles (°Brix)	Color de pulpa			
	(g)	(N)		L*	C*	h°	
Flordaking	160 ± 15	38 ± 5	11 ± 1	77 ± 2	42 ± 3	85 ± 2	
Early Grand	138 ± 14	44 ± 8	11 ± 1	76 ± 4	51 ± 2	82 ± 4	
Dixiland	163 ± 9	44 ± 15	13 ± 1	74 ± 2	51 ± 2	86 ± 3	
Fayette	170 ± 7	54 ± 9	11 ± 1	74 ± 2	42 ± 3	83 ± 6	

3.2.4.2. Determinaciones realizadas

Parámetros cromáticos y de firmeza, análisis sensorial, contenido de ácidos orgánicos (ácido málico, cítrico y ascórbico), contenido de azúcares (sacarosa, D-glucosa y D-fructosa), y expresión de proteínas de estrés.

3.2.4.3. Preparación de la muestra, tratamientos y diseño experimental

Los duraznos mínimamente procesados fueron obtenidos según se describiera anteriormente (<u>sección 3.1.2</u>.). Las bandejas fueron divididas en 2 lotes, uno de los cuales no fue sometido a ningún tratamiento (control), mientras que el lote restante fue sometido a un tratamiento de irradiación gamma con una dosis de 0,2 kGy. En la Tabla 6 se detalla la descripción del tratamiento aplicado.

Tabla 6: Descripción del tratamiento de irradiación gamma y los parámetros dosimétricos aplicados a los duraznos mínimamente procesados.

Tratamiento de irradiación gamma						
Dosis solicitada (kGy)	Dosis mínima (D _{mín})	Dosis máxima (D _{máx})	Relación D _{máx} /D _{mín}	Tiempo de irradiación (h)	Tasa de dosis (kGy/h)	
0 (Control)			-			
0,2	0,23	0,25	1,08	0,1	2,0	

Se estableció un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores (8x3): combinación variedad-tratamiento (Flordaking 0 kGy, Flordaking 0,2 kGy, Early

Grand 0 kGy, Early Grand 0,2 kGy, Dixiland 0 kGy, Dixiland 0,2 kGy, Fayette 0 kGy, Fayette 0,2 kGy) y tiempo de almacenamiento a 4 °C en tres niveles (0, 7 y 14 días).

3.3. Métodos

3.3.1. Composición gaseosa

Se determinó la concentración de los gases O₂ y CO₂ presentes en el espacio de cabeza de los envases conteniendo las muestras. Para esto, se utilizó un analizador de gases GC6000 (*Headspace analyser, Systech Illinois*, Estados Unidos), equipado con un detector de infrarrojos dual (Fig. 29).



Fig. 29: Analizador de gases GC6000 (Headspace analyser, Systech Illinois, Estados Unidos).

3.3.2. Parámetros cromáticos

Los parámetros cromáticos de la superficie de las muestras de duraznos se determinaron con un colorímetro Minolta CR-400 (*Konica Minolta Sensing*, Inc. Osaka, Japón) (Fig. 30), usando la escala CIE L*a*b* donde L* representa "Luminosidad", con una escala que va del 0 – negro al 100 – blanco; a* representa cromaticidad en un eje que va del verde (-) al rojo (+) y b* representa cromaticidad en un eje que va del azul (-) al amarillo (+). Con los parámetros de este sistema, se calcularon: C*, el valor *chroma*, que representa la saturación o intensidad de color y h°, que es el tono o ángulo de color (0° = púrpura-rojizo y 90° = amarillo). El colorímetro se configuró para el iluminante D_{65} , el ángulo de observador a 2° y se calibró utilizando un plato cerámico estándar blanco. Se evaluaron las superficies de las rodajas de durazno (2 mediciones por cada rodaja) correspondientes a cada tratamiento.



Fig. 30: Colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Japón).

3.3.3. Firmeza

Se realizó una aproximación instrumental de la textura de los duraznos mínimamente procesados mediante la medición por un test de penetración. Se analizaron individualmente las rodajas de las bandejas de cada tratamiento y ensayo en el que se realizó esta determinación. La medición se llevó a cabo con un analizador de textura TA-XT plus (*Stable Micro Systems* LTD. Surrey, Inglaterra), (Fig. 31) a temperatura ambiente, utilizando una sonda cilíndrica de 3 mm de diámetro (P/3 mm) y las siguientes condiciones durante el ensayo: 5 mm de penetración; velocidad de la sonda previa y durante la determinación de 1,5 mm/s; y velocidad de la sonda después de la determinación de 10 mm/s (velocidad con que la sonda regresa hasta el punto inicial).

Los datos de Fuerza vs Distancia se registraron para cada ciclo, y se determinó el parámetro de firmeza (N) utilizando el software *Texture Exponent 32 (Stable Micro Systems* LTD. Surrey, Inglaterra).



Fig. 31: Analizador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems LTD. Surrey, Inglaterra).

3.3.4. Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó en el Departamento de Evaluación Sensorial de Alimentos, perteneciente al Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria (ISETA) ubicado en 9 de Julio, Buenos Aires, Argentina.

3.3.4.1. Entrenamiento

Se trabajó con un panel de 9 evaluadores entrenados mediante la Norma ISO-8586-1 "Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring assessors" (ISO-8586, 2012). Las etapas de entrenamiento y medición de las muestras se realizaron empleando el ensayo de Análisis Descriptivo Cuantitativo, siguiendo los lineamientos de la Norma ISO 13299 "Sensory analysis. Methodology – General guidance for establishing a sensory profile" (ISO-13299, 2003). Los evaluadores registraron un mínimo de 100 h de experiencia en pruebas de discriminación y descriptivas, y concretamente 25 h de experiencia en pruebas descriptivas en duraznos.

En esta experiencia, se evaluó la apariencia, el olor, el gusto, el *flavor* y la textura de los duraznos mínimamente procesados de cada tratamiento y ensayo realizados. Todos los evaluadores completaron dos sesiones de formación antes de la medición de las muestras; estas sesiones consistieron en la generación de términos basados en las muestras presentadas, la selección de referencias y, a continuación, la discusión en una sesión abierta (Rogers, 2017), (Fig. 32).



Fig. 32: Sesiones de entrenamiento y discusión abierta.

La Tabla 7 lista los descriptores desarrollados para las muestras, como así también las definiciones de cada uno, para facilitar, en la medida de lo posible, la contribución a la uniformidad del panel.

Tabla 7: Descriptores y definiciones utilizadas durante el análisis sensorial respecto a la apariencia, olor, gusto, *flavor* y textura bucal.

APARIENCIA					
Descriptor	Definición				
Intensidad de color	Color de la pulpa				
Homogeneidad de la distribución del color	Uniformidad de color que presenta la bandeja de cada variedad				
Brillo	Presencia de brillo en la superficie de las rodajas que presenta la bandeja de cada variedad.				
Deshidratación	Aspecto seco y presencia de arrugas o grietas en la superficie de las rodajas				
	OLOR				
Descriptor	Definición				
Intensidad total	Intensidad total de olor percibido en la muestra				
Durazno	Olor a durazno, fruta				
Verde	Olor a durazno verde, fruta sin madurar				
Sobremaduro	Olor a durazno sobremaduro				
	GUSTO				
Descriptor	Definición				
Amargo	Gusto amargo percibido en la cavidad bucal				
Dulce	Gusto dulce percibido en la cavidad bucal				
Ácido	Gusto ácido percibido en la cavidad bucal				
FLAVOR					
Descriptor	Definición				
Intensidad total	Intensidad total de sabor percibido en la muestra				
Durazno	Sabor a durazno, fruta				
Verde	Sabor a durazno verde, fruta sin madurar				
Astringente	Sensación de sequedad percibida en lengua y paladar				

Pasado/Fermentado	Sabor a durazno, pasado o fermentado			
TEXTURA BUCAL				
Descriptor	Definición			
Dureza	Fuerza necesaria para cortar la rodaja de durazno con incisivos			
Jugosidad	Después de las 2 o 3 primeras masticadas, jugo que desprende la muestra			
Crujiente	Ruido percibido durante las 2 o 3 primeras masticadas			
Pastoso	Después de las 2 o 3 primeras masticadas, la muestra permanece unida sin disgregarse ni desmenuzarse y no desprende jugo.			

3.3.4.2. Sesiones de análisis sensorial

Las sesiones de análisis sensorial se llevaron a cabo en un laboratorio con salas normalizadas equipadas con cabinas individuales, iluminación fluorescente de tipo diurno, un extractor de aire y temperatura controlada (Fig. 33). Las muestras fueron presentadas en vasos plásticos descartables de 180 ml, con tapa de color blanco, identificados con un código aleatorio de tres dígitos. Cada evaluador recibió dos rodajas al azar para evaluar el olor; luego, una rodaja se utilizó para evaluar el gusto y *flavor* y la otra, para evaluar la textura en boca. Para que no hubiera sesgo en los atributos anteriores, la apariencia se evaluó en bandejas de plástico desechables identificadas con códigos aleatorios de tres dígitos diferentes. Se realizaron tres sesiones de medición para evaluar las muestras del día inicial de almacenamiento. El orden de presentación se aleatorizó entre los evaluadores y se les proporcionó agua mineral para limpiar sus paladares entre muestras.

Se asignó una escala de evaluación continua no estructurada de 0 a 10 puntos (0 = menor valor y 10 = mayor valor de intensidad).



Fig. 33: Laboratorio de análisis sensorial

3.3.5. Micrografía óptica

3.3.5.1. Microscopía de campo claro

Muestras de tejido de durazno (principalmente tejido parenquimático) se seccionaron manualmente utilizando una navaja afilada y se montaron en un portaobjeto con una gota de agua destilada. Las secciones fueron examinadas en el Laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional de Luján utilizando un microscopio óptico (*Nikon Eclipse* E200, Tokio, Japón) con cámara digital *Moticam*.

3.3.5.2. Microscopía de fluorescencia

La viabilidad de las células se determinó según lo descripto por Martínez *et al.*, (2007) en tejido de durazno, evaluando la acumulación de fluoresceína producida por clivaje enzimático de diacetato de fluoresceína (*fda*). Esto se basa en que las células muertas no pueden clivar el compuesto y entonces no fluorescen, indicando pérdida de compartimentalización y de la funcionalidad de la membrana. Por tanto, para esta determinación se preparó una solución de *fda* de 5 mg/ml en acetona que luego se diluyó con buffer fosfato 0,05 M pH 6,0 para dar una concentración final de 0,01%. Secciones transversales de las muestras fueron teñidas con esta mezcla de reacción por 5 min, y luego examinadas en el Laboratorio de Microscopia de la Universidad Nacional de Luján con un microscopio óptico con epifluorescencia *Axiolab* HB050X (*Carl Zeiss*, Alemania) acoplado a una cámara digital (*Moticam* 2.0), utilizando un filtro azul (excitación: 450–500 nm y emisión: 520 nm).

3.3.6. Actividad de enzimas

3.3.6.1. Actividad enzimática PPO, POD y ADH en solución

3.3.6.1.1. Extracción de proteínas

Para la extracción de las proteínas, se homogeneizaron 7 g de durazno con 20 ml de buffer fosfato [0,1 M, (pH 7,3) luego del agregado de 1% (p/v) PVPP (polivinilpolipirrolidona insoluble) como secuestrante de fenoles y 0,5 mM PMSF (fluoruro de fenilmetilsulfonilo) como inhibidor de proteasas], mediante la utilización de un Homogeneizador HH-S-1000 (*Hermann*, Alemania) a 30000 rpm por 2 min en hielo granizado. Posteriormente, el homogenato se mantuvo en agitación por 30 min en baño de hielo, luego de los cuales se centrifugó a 10000 × g por 15 min a 4 °C utilizando una centrífuga *Hermle Z* 383 K (*Hermle LaborTechnik* GmbH, Alemania). El sobrenadante se utilizó como extracto para la medición de las actividades enzimáticas.

3.3.6.1.2. Determinación de la actividad enzimática PPO

La actividad de la PPO se determinó utilizando tert-butilcatecol como sustrato, el cual genera como producto una quinona más estable que el catecol (el sustrato tradicional de la PPO), tal como fuera descripto por Denoya *et al.*, (2016). La actividad catecolasa de la PPO se evaluó mediante un método espectrofotométrico basado en el aumento de la velocidad inicial de absorbancia a 400 nm debido a la producción de 4-terc-butilbenzoaquinona, utilizando un espectrofotómetro UV-visible (*SPECTROstar Nano, BMG LABTECH* GmbH, Alemania). La medición se realizó en un volumen de 250 μl, compuesto por 50 mM buffer fosfato (pH 6,5) con 4,95 mM de 4-terc-butilcatecol, al cual se agregaron 25 μl del extracto proteico. La actividad se expresó como unidades por gramo de fruta fresca. Una unidad de enzima (U) se definió como la cantidad de enzima necesaria para cambiar la absorbancia a 400 nm en 0,01 por minuto a 30 °C.

3.3.6.1.3. Determinación de la actividad enzimática POD

La actividad POD se determinó utilizando un espectrofotómetro UV-visible (SPECTROstar Nano, BMG LABTECH GmbH, Alemania), midiendo el cambio de absorbancia a 470 nm debido a la oxidación enzimática del guayacol en presencia de peróxido de hidrógeno (Zheng y Van Huystee, 1992). El medio de reacción consistió en una mezcla de 100 mM buffer fosfato (pH 6,2) con 20 mM de guayacol, 2 μl de 5 mM de H₂O₂ en un volumen de 220 μl, al cual se agregaron 60 μl de extracto proteico. La actividad se expresó como unidades por gramo de fruta fresca. Una unidad de enzima (U)

se definió como la cantidad de enzima necesaria para cambiar la absorbancia a 470 nm en 0,001 por minuto a 30 °C.

3.3.6.1.4. Determinación de la actividad enzimática ADH

La actividad ADH se determinó de acuerdo con el método espectrofotométrico descripto por Walker (1992), con algunas modificaciones. El mismo se basa en el aumento de la absorbancia a 340 nm, debido a la generación de NADH a partir de NAD⁺ por la actividad enzimática, utilizando para la medición un espectrofotómetro UV-visible (*SPECTROstar Nano, BMG LABTECH* GmbH, Alemania). El medio de reacción consistió en una mezcla de 200 mM buffer TRIS (pH 8,8) con 100 mM de etanol (como sustrato), 30 μl de 1 mM NAD⁺ en un volumen de 220 μl, al cual se agregaron 40 μl del extracto enzimático. La actividad se expresó como unidades por gramo de fruta fresca. La unidad de enzima (U) quedó determinada como la cantidad de μM de NADH producidos para cambiar la absorbancia a 340 nm en 0,001 por minuto a 30 °C.

3.3.6.2. Detección de la actividad de las isoenzimas PPO y POD

3.3.6.2.1. Extracción de proteínas

Las proteínas se extrajeron del pericarpio del durazno siguiendo el método de Hurkman & Tanaka (1986) con algunas modificaciones.

Para la extracción, se homogeneizaron 2 g de durazno con 1 ml de buffer de extracción [100 mM Tris/HCl (pH 8,0), que contenía 1 mM EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), 1 mM PMSF y 2% (v/v) β-mercaptoetanol] y 4 ml de fenol saturado con 100 mM de buffer Tris (pH 8,0), mediante la utilización de un Homogeneizador HH-S-1000 (*Hermann*, Alemania) a 30000 rpm por 2 min. Posteriormente, los homogenatos se centrifugaron a 21000 × g durante 15 min a 4 °C, utilizando una centrífuga *Hermle* Z 383 K (*Hermle LaborTechnik* GmbH, Alemania). La fase fenólica fue recuperada, mezclada con cuatro volúmenes de acetato de amonio (AMA) 0,1 M, e incubada durante toda la noche a -20 °C. Los pellets de proteínas se obtuvieron por centrifugación a 21000 × g durante 20 min a 0 °C. A continuación, los pellets se lavaron dos veces con AMA, una vez con acetona fría (80% v/v) y se secaron a temperatura ambiente. El residuo seco se re-disolvió en buffer [25 mM Tris (pH 6,8), 1% (p/v) SDS (dodecilsulfato sódico), 10% (v/v) glicerol, 5% (v/v) β-mercaptoetanol, y 0,002% (p/v) azul de bromofenol].

3.3.6.2.2. Detección de la actividad de las isoenzimas PPO y POD mediante SDS-PAGE

Para la evaluación de isoenzimas de PPO se consideró el hecho que la actividad de esta enzima no es afectada negativamente por bajas concentraciones de SDS (Maki & Morohashi, 2006), por lo que fue posible realizar geles de actividad para este tipo de evaluación a partir del extracto vegetal mediante la técnica de SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio), (Cheng et al., 2007). De acuerdo con esto, se utilizó un procedimiento similar para la evaluación de la actividad de las isoenzimas de POD. Para esto, se sembraron 25 ul de cada extracto proteico en cada calle de un gel de poliacrilamida de 1,5 mm de espesor, el cual se desarrolló a una corriente constante de 40 mA durante 90 min, en un sistema de electroforesis PROTEAN II xi cell (Bio-Rad Laboratories Inc., Estados Unidos), (Fig. 34). Para la detección de las isoenzimas de PPO, los geles se cubrieron durante 2 min en papeles absorbentes empapados previamente en una solución de catecol al 0,5% (p/v). Posteriormente, éstos se secaron a 37 °C durante 5 min. Para las isoenzimas de POD, los geles se tiñeron sumergiéndolos en o-dianisidina al 0,2% (p/v) en metanol al 80% (pH 6,0), seguido de la adición de 30 mM H₂O₂. Las bandas que presentaban dicha actividad, correspondientes a las isoenzimas de POD se evidenciaron luego de 20 min a 37 °C. Los geles fueron posteriormente enjuagados con agua destilada (Neves & Lorenzo, 1998).

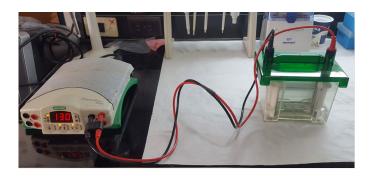


Fig. 34: Sistema de electroforesis PROTEAN II xi cell (Bio-Rad Laboratories Inc., Estados Unidos)

3.3.7. Concentración de etanol

La concentración de etanol se determinó a partir de la producción de NADH partiendo de la extracción de proteínas de las muestras (<u>Sección 3.3.6.1.1.</u>) mediante el método espectrofotométrico (Bücher & Redetzki, 1951), registrando la variación de absorbancia a 340 nm utilizando una microplaca (con una capacidad de 300 µl y un paso óptico de 1 cm) y un espectrofotómetro UV-visible (<u>SPECTROstar Nano, BMG LABTECH GmbH</u>,

Alemania). A continuación, se detallan los reactivos utilizados y las determinaciones realizadas (Tabla 8). Como estándar se utilizó etanol absoluto p.a. (*Biopack*, Argentina).

Tabla 8: Reactivos y determinaciones para calcular la concentración de etanol de una muestra.

	Determinaciones				
Reactivos	Blanco Estándar				Extracto
	Dianco	5%	10%	15%	de muestra
Buffer TRIS, 100 Mm (pH 8,8)	30 µl	30 µl	30 μl	30 µl	30 µl
Al-DH (6,25 U/ml) Aldehído deshidrogenasa de levadura panadera (<i>Saccaromyces cerevisiae</i>), activada con potasio (A6338 SIGMA, Alemania)	9 μΙ	9 μΙ	9 μΙ	9 μ1	9 μΙ
NAD ⁺ (80 mg/ml)	6 µl	6 µl	6 µl	6 µl	6 μl
$\mathrm{H}_2\mathrm{O}_\mathrm{d}$	180 μ1	180 μ1	180 μ1	180 µl	180 μ1
Etanol absoluto p.a. (> 99,5%), (Biopack, Argentina)	-	15 μl	30 μ1	45 μl	-
Extracto de muestra	-	-	-	-	15 μl
H ₂ O _d (diferencia)	45 µl	30 μl	15 μl	-	30 μl
Lectura de absorbancia a 340 nm, 20 °C					
ADH (1/10) (10000 U/ml) Alcohol deshidrogenasa de Saccaromyces cerevisiae (A7011-SIGMA, Alemania)	30 μl	30 µl	30 μl	30 μl	30 μΙ
Incubación 10 min y lectura de absorbancia a 340 nm, 20 °C					

Luego de la lectura, se determinaron las diferencias de absorbancias inicial y a los 10 min $(A_{inicial} \ y \ A_{10min})$, tanto para la muestra como para el blanco. Estas diferencias fueron luego restadas (Ecuación 4).

$$\Delta A = [(A_{10min} - A_{inicial})_{muestra}] - [(A_{10min} - A_{inicial})_{blanco}]$$
 Ecuación (4)

De acuerdo con esta ecuación, la concentración de etanol se calculó en base a la cantidad de NADH formada, que de acuerdo con la estequiometría de la reacción corresponde a la mitad de la cantidad de sustrato (Ecuación 5):

$$c [g/l] = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$
 Ecuación (5)

donde, c: contenido de etanol (g/l); V: Volumen final (ml); PM: Peso molecular del etanol (g/mol); ε: coeficiente de extinción molar del NADH (6,22 ×10³ M⁻¹ cm⁻¹ a 340 nm); d: paso óptico (cm); v: volumen de la muestra (ml).

3.3.8. Capacidad antioxidante

3.3.8.1. Fenoles totales

La extracción de fenoles totales se llevó a cabo de acuerdo con Pace *et al.*, (2011) con algunas modificaciones y la determinación se realizó a través de la técnica propuesta por Singleton & Orthofer (1999).

Así, se tomaron porciones de durazno de 2 g y se homogeneizaron con 6 ml de metanol al 90%. Las muestras tratadas se agitaron en vórtex por 2 min, se sonicaron en baño de ultrasonido a 40 kHz (HU6150D, *Tianjin Heng/Ao Technology Development Co.*, Ltd, China) durante 10 min, y se centrifugaron a 10000 × g por 10 min a 4 °C. Se tomaron 20 μl del extracto obtenido (previamente diluido 1/2) y se agregaron 100 μl de reactivo Folin-Ciocalteu (1/10). La mezcla se agitó en vórtex y se dejó reposar por 8 min. A continuación, se agregaron 180 μl de una solución acuosa de Na₂CO₃ de 75 g/l, y la mezcla se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente, se determinó la absorbancia de las muestras a 760 nm en un espectrofotómetro UV-visible (*SPECTROstar Nano, BMG LABTECH* GmbH, Alemania).

La curva estándar se realizó con ácido gálico (AG) y se realizaron distintas diluciones, para garantizar que las lecturas de las muestras estén comprendidas en el rango de la curva. La solución estándar de ácido gálico se preparó disolviendo 25 mg en 250 ml de agua. Con esto se procedió a armar la curva con concentraciones de: 5, 10, 20, 25, 50, 100 y 200 mg/l. Los resultados se expresaron como equivalentes de AG (μM AG /100 g de fruta).

3.3.8.2. FRAP

Este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe⁺³) presente en un complejo con 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe⁺²), que presenta un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590–595 nm (Benzie & Strain, 1996). Para realizar este ensayo se utilizaron 20 ml de buffer ácido acético-acetato de sodio 300 mM (pH 3,6), y se mezcló con 2 ml de TPTZ 10 mM en HCl 40 mM, y con 2 ml de FeCl₃.6H₂O 0,02 mM. Acto

seguido, se tomaron 200 µl de esta solución y se mezcló con 50 µl del extracto de muestra (previamente diluido 1/2). Luego de 60 min de reacción se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm en un espectrofotómetro UV-visible (SPECTROstar Nano, BMG LABTECH GmbH, Alemania).

La reactividad de los extractos de fruta fue comparada con la del compuesto *6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid* (Trolox), análogo a la vitamina E. Para esto, se construyó una curva estándar con 5 concentraciones diferentes de Trolox (4 mM): 25, 50, 100, 200 y 400 μM. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (μM Trolox/ 100 g de fruta).

3.3.8.3. DPPH

Este método, desarrollado por Brand-Williams *et al.*, (1995), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH por antioxidantes. Con modificaciones al método descrito por Kim *et al.*, (2002), se preparó la solución DPPH 0,1 mM (1,66 ml) disuelto en metanol al 80% (8,34 ml). Para la reacción, se mezclaron 200 μl de esta solución con 50 μl de extracto de la muestra (previamente diluida 1/4). Se dejó reposar 30 min y se midió la absorbancia a 515 nm utilizando un espectrofotómetro UV-visible (*SPECTROstar Nano, BMG LABTECH* GmbH, Alemania).

Se realizó una curva estándar con ácido gálico (AG), en iguales condiciones que para determinar fenoles totales, utilizándose metanol como blanco. Los resultados se expresaron como equivalentes de AG (µM AG/100 g de fruta).

3.3.8.4. ABTS

Este método se fundamenta en la cuantificación del grado de decoloración del radical ABTS⁺, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical catiónico ABTS⁺ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio (Re *et al.*, 1999).

El radical ABTS⁺ se obtuvo tras la reacción de 7 mM ABTS con 2,45 mM persulfato potásico incubados a temperatura ambiente (± 25 °C) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS⁺, se tomaron 600 μl y se diluyeron con 10 ml de agua. Se mezclaron 200 μl de esta solución con 50 μl del extracto de muestra (previamente diluido 1/8) y se dejó reaccionar por 6 min. Finalmente se determinó la absorbancia a 734 nm

en un espectrofotómetro UV-visible (SPECTROstar Nano, BMG LABTECH GmbH, Alemania).

Como estándar, también se utilizó Trolox, y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (µM Trolox/ 100 g de fruta).

3.3.9. Ácidos orgánicos

3.3.9.1. Extracción

La extracción de los ácidos orgánicos se realizó de acuerdo con la técnica descripta por Valente et~al., (2011) con algunas modificaciones. Las muestras de tejido de durazno previamente congeladas en N_2 líquido y almacenadas a -40 °C se trataron con un Homogeneizador HH-S-1000 (Hermann, Alemania) a 30000 rpm por 2 min en hielo granizado y protegidas de la luz. Se pesaron 2 g de cada homogenato y se mezclaron con 5 ml de una solución acuosa que contenía 10% (p/v) de ácido perclórico (HClO4) y 1% (p/v) de ácido metafosfórico (HPO3). Las muestras así tratadas se agitaron 2 min en vórtex y luego se centrifugaron durante 10 min a $10000 \times g$ a 4 °C. El sobrenadante se separó y se filtró luego con un filtro de nylon de $20~\mu m$, realizándose inmediatamente el análisis.

3.3.9.2. Determinación

El contenido de ácido málico, ácido cítrico y ácido ascórbico presentes en las muestras se determinó utilizando cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC/MS) en fase reversa, con un cromatógrafo *Alliance Waters* (*Separations Module* n° 2695) equipado con dos bombas y un detector UV/vis de doble longitud de onda (n° 2996), (*Waters*TM, Estados Unidos), (Fig. 35). La columna que se utilizó fue C18 *Pheno Sphere-NEXT*, 5 μm, 4,6 mm ID x 150 mm, 120 Å (*Thermo Fisher Scientific* Inc., Estados Unidos). Se utilizaron como fase móvil: solución "A" (buffer fosfato potásico 0,01 M, pH 2,5) y solución "B" (metanol). Se empleó un flujo isocrático: 85% de solución "A" y 15% de solución "B" durante el tiempo de corrida. El flujo de corrida fue de 0,5 ml/min, el volumen de inyección de 10 μl por muestra y la longitud de onda de lectura de 210 nm (para ácido málico y cítrico) y 243 nm (para ácido ascórbico). Los resultados se expresaron como mg de ácido málico/cítrico/ascórbico cada 100 g de tejido fresco.

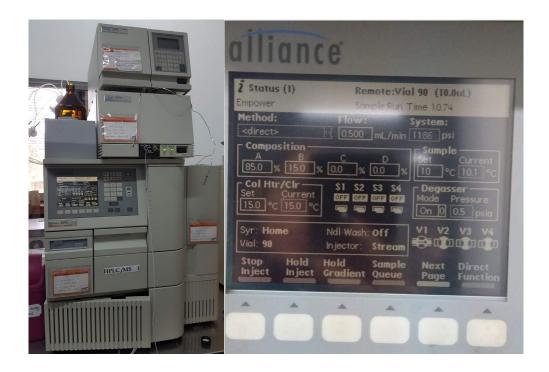


Fig. 35: Cromatógrafo *Alliance Waters* (*Separations Module* 2695) equipado con dos bombas y detector 2996 UV/vis de doble longitud de onda (*Waters*TM, Estados Unidos).

3.3.10. Azúcares

3.3.10.1. Extracción

Las muestras de tejido de durazno previamente congeladas en N_2 líquido y almacenadas a -40 °C se homogeneizaron en frío con un Homogeneizador HH-S-1000 (*Hermann*, Alemania) a 30000 rpm por 2 min. Se pesaron 2 g de cada homogenato y se mezclaron con 6 ml de una solución de metanol al 90%. Las muestras se agitaron 2 min en vórtex y luego se centrifugaron durante 10 min a $10000 \times g$ a 4 °C. El sobrenadante se separó y se filtró luego con un filtro de nylon de 20 μ m, para analizarlo inmediatamente.

3.3.10.2. Determinación

La concentración de azúcares presentes en las muestras, en particular la concentración de sacarosa, D-glucosa y D-fructosa se determinó utilizando un kit comercial enzimático (Sacarosa/D-glucosa/D-fructosa *Enzymatic BioAnalysis, Boehringer Mannheim, R-Biopharm*, Alemania). El principio de este método radica en determinar la concentración de D-glucosa antes y después de la hidrólisis de la sacarosa, mientras que la D-fructosa se determina subsecuentemente a la medición de glucosa. A continuación, se detallan los pasos de la determinación:

- Determinación de D-glucosa antes de la inversión: A pH 7,6, la enzima hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de la D-glucosa por adenosina-5'-trifosfato (ATP) con la formación simultánea de adenosina-5'-difosfato (ADP), (Reacción 7).

D-glucosa + ATP
$$\xrightarrow{\text{HK}}$$
 G-6-P + ATP (Reacción 7)

En presencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH), la D-glucosa-6-fosfato (G-6-P) formada se oxida específicamente por nicotinamida-adenina dinucleótido (NADP) a D-gluconato-6-fosfato con la formación de nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH), (Reacción 8).

$$G\text{-}6\text{-}P + ATP \qquad \xrightarrow{G6P\text{-}DH} \qquad D\text{-}gluconato\text{-}6\text{-}fosfato + NADPH + H^+ \ \ (Reacción 8)$$

Dado que la reacción es estequiométrica, el NADPH formado, que puede ser medido por el incremento de la absorbancia a 365 nm, equivale a la cantidad de D-glucosa presente.

- Determinación de D-fructosa: La hexoquinasa también cataliza la fosforilación de D-fructosa a D-fructosa-6-fosfato (F-6-P) con la ayuda de ATP (Reacción 9).

Al finalizar la reacción 9, la F-6-P se convierte en G-6-P por medio de la fosfoglucosa isomerasa (PGI), (Reacción 10).

La G-6-P reacciona con NADP para formar D-gluconato-6-fosfato y NADPH (Reacción 8). La cantidad de NADPH formado corresponde estequiométricamente a la cantidad de D-fructosa originalmente presente.

- *Inversión enzimática*: A pH 4,6, la sacarosa es hidrolizada por la enzima β-fructosidasa (invertasa) a D-glucosa y D-fructosa (Reacción 11).

La determinación de D-glucosa luego de la inversión (D-glucosa total) se realiza de acuerdo con el principio detallado anteriormente. El contenido de sacarosa puede calcularse en consecuencia a partir de la diferencia de la concentración de D-glucosa antes y después de la inversión enzimática. A continuación, se detallan los reactivos utilizados y las determinaciones realizadas, midiendo las absorbancias de las muestras a 365 nm en

un espectrofotómetro UV-visible (SPECTROstar Nano, BMG LABTECH GmbH, Alemania) (Tabla 9).

Tabla 9: Reactivos y determinaciones para calcular la concentración de hidratos de carbono de una muestra.

Reactivos	Determinaciones						
	Blanco sacarosa	Muestra sacarosa	Blanco glucosa/fructosa	Muestra glucosa/fructosa			
Buffer citrato (pH 4,6) + β-fructosidasa (720 U)	20 μl	20 μl	-	-			
Muestra	-	40 μl	-	40 μl			
	Mezclar e incubar 15 min a temperatura ambiente						
Buffer trietanolamina (pH 7,6) + NADP +ATP + sulfato de magnesio	100 μ1	100 μl	100 μ1	100 μl			
H ₂ O _d	170 µl	130 µl	180 µl	140 μl			
Mezo	clar, incubar 3 min	n y leer absorbanci	ia a 365 nm, 20 °C (A1)			
Hexoquinasa (320 U) + glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (160 U)	10 μ1	10 μ1	10 μl	10 μl			
Mezclar, incubar 15 min y leer absorbancia a 365 nm, 20 °C (A2)							
Fosfoglucosa isomerasa (420 U)	-	-	10 μl	10 μ1			
Mezclar, incubar 15 min y leer absorbancia a 365 nm, 20 °C (A3)							

Luego de la lectura, se determinaron las diferencias de absorbancias $(A_2 - A_1)$ tanto para el blanco como las muestras. Estas diferencias luego se restaron (Ecuación 6).

$$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ muestra}] - [(A_2 - A_1) \text{ blanco}]$$
 Ecuación (6)

La diferencia entre ΔA total D-glucosa (de la muestra de sacarosa) y $\Delta A_{glucosa}$ (de la muestra de D-glucosa) da como resultado el $\Delta A_{sacarosa}$. Para la determinación de D-

fructosa, se determinaron las diferencias de absorbancias $(A_3 - A_2)$ tanto para el blanco como las muestras (muestras de D-glucosa/D-fructosa). El valor $\Delta A_{D\text{-fructosa}}$ corresponde a la diferencia de absorbancia entre las muestras y el blanco. Para calcular la concentración de sacarosa, D-glucosa y D-fructosa, se empleó por lo tanto la ecuación 5 (*sección 3.3.7.*), considerando en este caso los pesos moleculares de cada hidrato de carbono y el coeficiente de extinción molar del NADH a 365 nm. Luego los resultados se expresaron como g de sacarosa/glucosa/fructosa cada 100 g de tejido fresco.

3.3.11. Proteínas de estrés

3.3.11.1. Extracción de proteínas

Ídem procedimiento <u>sección 3.3.6.2.1.</u> Además, las muestras se incubaron a 90 °C durante 2 min antes de sembrarlas en el gel y someterlas a electroforesis.

3.3.11.2. Análisis electroforético

El sistema de electroforesis fue llevado a cabo según el procedimiento de Laemmli (1970) en geles de 0,75 mm de espesor. En cada una de las calles fueron sembradas cantidades iguales de proteínas (40 μg) a partir de los extractos preparados en la *sección 3.3.11.1*. Las proteínas fueron separadas usando geles de proliacrilamida, con una concentración en el gel separador del 12,5%, lo cual permite una buena separación y visualización de las proteínas de PM entre 10 y 200 kDa. Las corridas electroforéticas se realizaron en un sistema de electroforesis PROTEAN II xi cell (*Bio-Rad Laboratories* Inc., Estados Unidos) a voltaje constante 100 V durante 60 min y luego 130 V durante 30 min. Para estimar el PM de las diferentes bandas de proteínas se utilizaron proteínas de PM conocido, en un rango entre 10 y 245 kDa (*PanReac AppliChem, Protein Marker VI prestained, low molecular weight standard*). Las bandas de proteínas fueron visualizadas por tinción con una solución 0,1% (p/v) de azul brillante *Coomasie* R-250.

3.3.11.3. Inmunotransferencia

Las proteínas separadas por SDS-PAGE fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa (tamaño de poro: 0,45 μm) durante 60 min a 100 V mediante el accesorio de transferencia (transferencia húmeda) del sistema de electroforesis Protean II (*Bio-Rad Laboratories* Inc., Estados Unidos), (Fig. 36). Inmediatamente después de la transferencia, la membrana fue lavada en primer lugar con buffer salino Tris Tween (BSTT) durante 15 min, y luego bloqueada durante 60 min a 20 °C con una solución 2%

de leche en polvo en BSTT. A continuación de la etapa de bloqueo, la membrana fue incubada durante 90 min a 20 °C con el anticuerpo primario [anticuerpo monoclonal comercial anti-HSP70 (SIGMA, número de catálogo H5147, monoclonal anti-heat shock protein 70 clone BRM-22), diluido 1:1500 en BSTT + 2% leche en polvo descremada (para la detección las HSP70); o con antisuero policlonal obtenido contra la proteína de estrés de 21 kDa purificada de extractos de frutos de tomate (HSPC1), dilución 1:750 en BSTT + 2% leche en polvo descremada para la detección de HSP de bajo peso molecular]. Luego del lavado durante 15 min con solución BSTT, la membrana fue incubada durante otros 90 min a 20 °C con el anticuerpo secundario [anti-ratón IgG para el caso de anti-HSP70, o anti-conejo IgG para el caso de anti-HSPC1, obtenidos ambos en cabra, conjugado con fosfatasa alcalina (Bio-Rad Laboratories Inc., Estados Unidos) en una dilución 1:1500]. Luego de tres lavados de 15 min cada uno con BSTT, la membrana fue revelada con solución reveladora (SR) hasta visualización de las bandas (Stott, 1989). La producción de anticuerpos policlonales se llevó a cabo según lo descrito por Polenta et al., (2007).

Reactivos:

BSTT: 0.05% (v/v) Tween 20 en TBS; 20 mM Tris-HCl, pH 7,5; 500 mM NaCl

SR: 0,4 mM nitroblue tetrazolium chloride (NBT); 0,4 mM 5-bromo-4-chloro-3- indolyil fosfato (BCIP)

en buffer de desarrollo (BD)

BD: 100 mM Tris pH 9,0; 100 mM NaCl; 5 mM MgCl₂



Fig. 36: Sistema de electroforesis Protean II (*Bio-Rad Laboratories* Inc., Estados Unidos) y accesorio de transferencia (transferencia húmeda).

3.3.12. Análisis de imágenes

Los geles y las membranas de los análisis electroforéticos fueron analizados con un densitómetro (GS-800 *Calibrated Imaging Densitometer*®, *Bio-Rad Laboratories* Inc., Estados Unidos). Las imágenes fueron capturadas y procesadas mediante el software de

análisis de imágenes *Quantity One* 1-D (*Bio-Rad Laboratories* Inc., Estados Unidos). Una vez digitalizadas las imágenes, se determinaron los pesos moleculares aparentes y las cantidades relativas y absolutas de proteínas correspondientes a las distintas bandas, mediante las funciones del mencionado software diseñadas para tal fin.

3.3.13. Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados gráficamente mediante el software *Sigma Plot* (Versión 12.3, *Systat Software*, Inc., Estados Unidos), el cual emplea el algoritmo Marquardt-Levenberg (Marquardt, 1963).

Con respecto a los análisis estadísticos, se calcularon las medias de los valores experimentales para cada ensayo y tratamiento. Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de la varianza (ANOVA) usando el procedimiento GLM (*General Linear Model*) del software estadístico SAS *OnDemand* (SAS *Institute*, Cary, NC, Estados Unidos). Cuando los efectos principales no presentaron interacciones entre ellos, la separación de medias se realizó mediante las pruebas *post hoc* de Tukey y/o LSD (*Least Significant Difference*), (Snedecor y Cochran, 1989), considerando un p-valor ≤ 0.05 para mostrar diferencias estadísticamente significativas en los datos presentados en Tablas y Figuras.

El diseño de optimización de procesos se realizó utilizando los softwares estadísticos *Statistica* (versión 7.0, *Stat Software*, Inc., Estados Unidos) y *Python* (versión 3.10, *Scientific Python Development Environment-Spyder*) en conjunto con las librerías de código abierto específicas, tales como: *Scikit-learn, Numpy, Seaborn, Pandas y Matplotlib*. En términos de evaluar la aptitud varietal de la materia prima, se aplicaron métodos estadísticos multivariados, en particular algoritmos de regresión de mínimos cuadrados parciales o *Partial least squares regression* (PLS *regression*), utilizando el software XLSTAT (*Addinsoft*, Paris, Francia), con el módulo incorporado XLSTAT *Sensory*, y para validar los parámetros de proceso, se aplicó la prueba estadística *t*-Student pareada, considerando los valores predichos óptimos y experimentales, con el software estadístico SAS *OnDemand* (SAS *Institute*, Cary, NC, Estados Unidos).

4. RESULTADOS

y

DISCUSIÓN



4

4.1.ENSAYO PRELIMINAR

Diseño y puesta a punto de un sistema experimental para evaluar la aplicación de irradiación gamma en duraznos mínimamente procesados



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ensayo preliminar. Diseño y puesta a punto de un sistema experimental para evaluar la aplicación de irradiación gamma en duraznos mínimamente procesados

4.1.1. Objetivos específicos

El presente ensayo se realizó con el objetivo de poner a punto un sistema experimental para utilizar en el trabajo de tesis, estableciendo las distintas variables y elementos que lo constituyen. En base al relevamiento bibliográfico y de experiencias previas del grupo de investigación, se establecieron las condiciones del diseño del sistema, como por ejemplo: el sistema de corte, el tamaño y forma de las rodajas de durazno, la aplicación de tratamientos de preservación por inmersión en una solución de antioxidantes, la forma de envasado, el tipo de film a utilizar, la dosis de irradiación a aplicar, entre otros, para establecer el proceso de elaboración de los duraznos mínimamente procesados.

Una vez definidas estas variables, se llevó a cabo el presente ensayo, con carácter preliminar, para evaluar su efectividad en tres variedades de durazno. Se consideró oportuno utilizar como variables de selección (variables respuesta) las características cromáticas y la firmeza, ya que estas brindan una adecuada aproximación inicial como indicadores de calidad del producto.

4.1.2. Resultados

Los parámetros cromáticos y de firmeza determinados para las 3 variedades durante el tiempo de almacenamiento a 4°C se muestran en las Tablas 10, 11 y 12. Los resultados muestran que, de modo general, el tratamiento de irradiación no tuvo de por sí un efecto importante sobre los parámetros cromáticos L*, C* y h°.

No obstante, L* sufrió una reducción significativa en las muestras de cv. RS55 sin piel control y las sometidas a 1,0 kGy (al día 0) con respecto a las muestras con piel irradiadas, mientras que al día 14, lo mismo se observó en las sin piel sometidas a todos los tratamientos con respecto a las muestras con piel tratadas a 0,5 kGy. Asimismo, para cv. June Gold, L* presentó los menores valores en las muestras sin piel sometidas a 0,5 kGy (al día 0 y 7), así como también en las muestras de cv. Ruby Prince sin piel a 1,0 kGy (al día 14).

Respecto al parámetro C*, solo se evidenció una reducción de su valor en las muestras sin piel sometidas a 0,5 kGy en cv. RS55 (al día 14), diferenciándose (p < 0,05) únicamente de las muestras con piel tratadas a 1,0 kGy. Además, se observó una disminución de C* en las muestras sin piel control en cv. June Gold (al día 7) con respecto a las con piel control.

En relación al parámetro h°, se visualizó una reducción solo en aquellas muestras de cv. RS55 sin piel sometidas a 1,0 kGy (al día 14), diferenciándose (p < 0,05) únicamente de las muestras con piel tratadas a 0,5 kGy. Asimismo, h° disminuyó de manera significativa en las muestras de cv. June Gold sin piel tratadas a 0,5 kGy (al día 0) con respecto a las sin piel control y también disminuyó en las sin piel control (al día 7) con respecto a las sin piel tratadas a 1,0 kGy. Por su parte, en cv. Ruby Prince, se observó una reducción de h° en las muestras con piel sometidas a 1,0 kGy (al día 0) con respecto a las sin piel, y a 0,5 kGy (al día 7) con respecto a las con piel control y también se observó una reducción de h° en las muestras sin piel tratadas a 1,0 kGy al día 14 con respecto a las con piel irradiadas.

En contraste, los parámetros L*, C* y h° disminuyeron su valor a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento, independientemente de la variedad. En particular este efecto fue significativo luego de 14 días de almacenamiento para los parámetros L* y h° en las muestras de cv. RS55 y para el parámetro C* en las muestras de cv. June Gold, mientras en cv. Ruby Prince, una reducción significativa en C* y h° se vislumbró ya a los 7 días de almacenamiento.

Los resultados muestran que la firmeza de los duraznos disminuye significativamente como consecuencia de la aplicación de los tratamientos de irradiación para las tres variedades y, en general, dentro de las frutas tratadas, se observan menores valores en las muestras sometidas a las dosis de 1,0 kGy, en comparación al tratamiento de 0,5 kGy. Este efecto fue a su vez potenciado por el almacenamiento, el cual produjo una disminución significativa de la firmeza en las muestras a partir de los 7 días de conservación. Sin embargo, no hubo diferencias significativas de la misma entre muestras con y sin piel, exceptuando a las muestras control sin piel de cv. RS55 al día 14 de almacenamiento, las cuales presentaron una reducción significativa de la firmeza con respecto a las control con piel.

Tabla 10: Evaluación de firmeza y parámetros cromáticos del sistema CIEL* C* h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. RS55 a diferentes dosis de irradiación (0; 0,5; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

cv. RS55							
Dosis	Piel	Tiempo de	Firmeza	Parái	Parámetros cromáticos		
(kGy)	Piei	almacenamiento (días)	(N)	L*	C*	h°	
0	sí		6,5 ^{aA}	68,9 ^{abA}	40,1 ^{aA}	89,3ªA	
U	no		5,7 ^{aA}	65,3 ^{bA}	41,3 ^{aA}	88,9 ^{aA}	
0,5	sí	0	$4,0^{bA}$	71,1 ^{aA}	38,7 ^{aA}	90,6ªA	
0,3	no		3,8 ^{bcA}	68,0 ^{abA}	40,2ªA	89,8 ^{aA}	
1.0	sí		$2,7^{\text{cdA}}$	71,0 ^{aA}	39,0 ^{aA}	88,6 ^{aA}	
1,0	no		1,9 ^{dA}	66,5 ^{bA}	40,2ªA	88,2 ^{aA}	
0	sí	7	5,9 ^{aA}	66,4 ^{aA}	39,1 ^{aA}	83,7 ^{aB}	
0	no		4,5 ^{aA}	65,4ªA	38,0 ^{aAB}	85,5 ^{aA}	
0.5	sí		1,5 ^{bB}	69,0 ^{aAB}	37,6ªA	85,4 ^{aB}	
0,5	no		1,1 ^{bB}	67,9 ^{aA}	37,7 ^{aAB}	85,9 ^{aA}	
1.0	sí		2,1 ^{bA}	65,6 ^{aAB}	38,9ªA	83,0 ^{aB}	
1,0	no		1,4 ^{bAB}	68,3ªA	39,0 ^{aA}	85,3 ^{aA}	
0	sí		2,6 ^{aB}	60,2 ^{abB}	38,0 ^{abA}	79,5 ^{abB}	
0	no		1,3 ^{bB}	56,7 ^{bB}	35,3 ^{abB}	78,3 ^{abB}	
0.5	sí	14	1,5 ^{bB}	66,0 ^{aB}	37,4 ^{abA}	81,4 ^{aC}	
0,5	no	17	0,8 ^{bB}	54,2 ^{bB}	33,5 ^{bB}	76,3 ^{abB}	
1.0	sí		0,9 ^{bB}	62,3 ^{abB}	38,1ªA	78,6 ^{abB}	
1,0	no		1,1 ^{bB}	56,3 ^{bB}	35,9 ^{abB}	74,9 ^{bB}	

Letras minúsculas diferentes representan diferencias entre combinación tratamiento-piel para cada tiempo de evaluación por cada parámetro cromático y de firmeza, según test de Tukey (p < 0.05). Letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación tratamiento-piel por cada parámetro cromático y de firmeza (p < 0.05).

Tabla 11: Evaluación de firmeza y parámetros cromáticos del sistema CIEL* C* h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. June Gold a diferentes dosis de irradiación (0; 0,5; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

cv. June Gold						
Dosis	Dosis (kGy) Piel Tiempo de almacenamiento (días) Firmeza (N)	Firmeza	Parámetros cromáticos			
(kGy)		L*	C*	h°		
0	sí		6,7 ^{aA}	71,1 ^{aA}	40,6ªA	85,2 ^{abA}
0	no		6,7 ^{aA}	69,1 ^{abA}	41,4 ^{aA}	86,4 ^{aA}
0.5	sí	0	2,7 ^{bA}	68,3 ^{abB}	41,3 ^{aA}	81,1 ^{abA}
0,5	no		2,1 ^{bA}	64,3 ^{bA}	38,7 ^{aA}	79,6 ^{bA}
1.0	sí		1,8 ^{bA}	69,4abAB	41,3ªA	82,9 ^{abA}
1,0	no		1,8 ^{bA}	69,4 ^{abA}	42,0 ^{aA}	85,5 ^{abA}
0	sí		1,8 ^{abB}	71,6 ^{abA}	39,0 ^{aA}	82,7 ^{abAB}
0	no		3,3 ^{aB}	69,4 ^{abA}	36,2 ^{bB}	80,0 ^{bB}
0.5	sí	7	1,2 ^{bAB}	72,4 ^{aA}	37,7 ^{abB}	82,8 ^{abA}
0,5	no	,	0,9 ^{bB}	68,5 ^{bA}	37,0 ^{abA}	82,3 ^{abA}
1.0	sí		1,6 ^{bAB}	71,4 ^{abA}	37,7 ^{abB}	82,7 ^{abA}
1,0	no		1,5 ^{bA}	70,0 ^{abA}	37,8 ^{abA}	83,8 ^{aAB}
0	sí		2,4ªB	70,6 ^{aA}	36,4 ^{aB}	81,1 ^{aB}
0	no		1,6 ^{abB}	69,8 ^{aA}	36,9 ^{aB}	81,5 ^{aB}
0.5	sí	14	0,8 ^{bB}	72,5 ^{aA}	35,2 ^{aC}	82,0 ^{aA}
0,5	no		0,8 ^{bB}	67,8 ^{aA}	37,5 ^{aA}	79,8 ^{aA}
1.0	sí		0,9 ^{bB}	67,0 ^{aB}	36,9 ^{aB}	79,4 ^{aA}
1,0	no		0,9 ^{bA}	66,7 ^{aA}	40,2ªA	80,5 ^{aB}

Letras minúsculas diferentes representan diferencias entre combinación tratamiento-piel para cada tiempo de evaluación por cada parámetro cromático y de firmeza, según test de Tukey (p < 0.05). Letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación tratamiento-piel por cada parámetro cromático y de firmeza (p < 0.05).

Tabla 12: Evaluación de firmeza y parámetros cromáticos del sistema CIEL* C* h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. Ruby Prince a diferentes dosis de irradiación (0; 0,5; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

cv. Ruby Prince							
Dosis	Dial	Tiempo de Piel almacenamiento (días)	Firmeza (N)	Parái	Parámetros cromáticos		
(kGy)	Piei			L*	C*	h°	
0	sí		7,6 ^{aA}	75,4ªA	41,4 ^{aA}	89,6abA	
0	no		8,3 ^{aA}	73,7 ^{aA}	41,4 ^{aA}	90,6 ^{abA}	
0,5	sí	0	6,7 ^{abA}	76,3 ^{aA}	39,5 ^{aA}	91,3 ^{abA}	
0,3	no		6,7 ^{abA}	74,5 ^{aA}	40,4ªA	89,2 ^{abA}	
1.0	sí		4,8 ^{bcA}	74,5 ^{aA}	42,7 ^{aA}	87,4 ^{bA}	
1,0	no		2,7 ^{cA}	76,3 ^{aA}	39,7 ^{aA}	91,7 ^{aA}	
0	sí		5,4 ^{aAB}	76,0 ^{aA}	36,9 ^{aB}	88,0 ^{aAB}	
0	no		6,6ªA	74,6 ^{aA}	38,1 ^{aB}	87,7 ^{abAB}	
0.5	sí	7	1,1 ^{bB}	74,4 ^{aA}	39,3 ^{aA}	85,4 ^{bB}	
0,5	no	,	1,7 ^{bA}	73,8 ^{aA}	37,4 ^{aB}	86,0 ^{abB}	
1.0	sí		1,5 ^{bB}	72,9 ^{aA}	38,0 ^{aB}	87,0abA	
1,0	no		1,6 ^{bB}	73,8 ^{aA}	37,4ªAB	87,0abB	
0	sí		2,1 ^{abB}	70,8 ^{abB}	35,8 ^{aB}	85,2 ^{abB}	
0	no		3,3 ^{aB}	72,6 ^{abA}	35,9 ^{aC}	85,5 ^{abB}	
0.5	sí	14	1,5 ^{bB}	74,7 ^{aA}	35,4 ^{aB}	87,6 ^{aB}	
0,5	no		1,9 ^{abA}	71,2 ^{abA}	36,2 ^{aB}	84,7 ^{abB}	
1.0	sí		1,6 ^{bB}	74,3 ^{aA}	36,2 ^{aB}	87,5 ^{aA}	
1,0	no		1,8 ^{bB}	67,7 ^{bB}	36,0 ^{aB}	82,1 ^{bC}	

Letras minúsculas diferentes representan diferencias entre combinación tratamiento-piel para cada tiempo de evaluación por cada parámetro cromático y de firmeza, según test de Tukey (p < 0.05). Letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación tratamiento-piel por cada parámetro cromático y de firmeza (p < 0.05).

4.1.3. Discusión

El color representa en productos frutihortícolas uno de los atributos de calidad más importantes, ya que está estrechamente relacionado con la apariencia, y es la primera característica que percibe el consumidor para juzgar la calidad de un producto. Desde el punto de vista físico, el mismo puede ser definido como el impacto de la luz

correspondiente al espectro visible (390 a 760 nm) sobre la retina humana. En las frutas y hortalizas, el color está condicionado mayormente por la composición de pigmentos, que se ven afectados durante el proceso de maduración. Generalmente, el parámetro de tono (hue - h°), es el más importante en la apreciación de la calidad de frutas y hortalizas (Florkowski et al., 2014). La disminución de los parámetros cromáticos L*, C* y h° observada en mayor medida por efecto del almacenamiento, está principalmente asociada a la pérdida de blancura, a la disminución de la saturación del color y al cambio de tono del amarillo al anaranjado/amarronado, respectivamente. Todos estos fenómenos están relacionados con la degradación de pigmentos y con el desarrollo de pardeamiento enzimático. Es importante considerar, que en este ensayo se utilizó un envase de alta permeabilidad al oxígeno. Probablemente por esta característica, y, de acuerdo con la interpretación de los resultados, el mismo no habría prevenido adecuadamente el desarrollo de los fenómenos bioquímicos alterantes involucrados en el cambio de color de las frutas durante el almacenamiento refrigerado, permitiendo que el intercambio de oxígeno promueva la generación de radicales libres debido a la irradiación, y afectando así a los pigmentos naturales de las frutas. En estas alteraciones tienen un papel muy importante las actividades de las enzimas oxidativas PPO y POD, las cuales promueven reacciones y cambios estructurales que conllevan al pardeamiento y a la pérdida del color (Ferrer et al., 2005).

Por su parte, la textura refleja, a nivel sensorial, las propiedades estructurales, mecánicas y superficiales de los alimentos, tal como son percibidas a través de los sentidos de la visión, el oído, el tacto y la cinestesia. Esta última comprende la sensación de presencia, movimiento y posición resultante de la estimulación de las terminales nerviosas. Para hacer una aproximación instrumental de la textura de un alimento, los análisis más utilizados son los tests de compresión simple y los tests de punción. Estas técnicas consisten en someter a las muestras al efecto de una fuerza ejercida por una sonda y obtener, durante la misma, la curva de fuerza que opone la muestra al avance de la sonda vs tiempo. En el test de punción se define como dureza o firmeza a la altura del pico de fuerza máxima registrado durante la punción de la sonda. Existen numerosos trabajos en distintos alimentos que muestran una buena correlación entre los parámetros instrumentales (utilizando el test de punción) y el análisis sensorial de textura (Bourne, 2002), incluidos los productos mínimamente procesados (Giacalone & Chiabrando, 2013; Lana *et al.*, 2007; Saftner *et al.*, 2005).

Los resultados del presente ensayo preliminar se correlacionan con estudios previos, que muestran que los tratamientos de irradiación inducen en los tejidos vegetales diversos cambios fisiológicos, siendo uno de los más notorios el ablandamiento de los tejidos (Kader, 1986). Se considera que este fenómeno está en general asociado a la modificación de la estructura de la pared celular, siendo los principales factores los mencionados a continuación:

- La despolimerización parcial de los polisacáridos de la pared, principalmente celulosas, hemicelulosas, y la solubilización de pectinas (D'Ambrosio *et al.*, 2013;
 D'Amour *et al.*, 1993; Fruk *et al.*, 2014),
- La acción de enzimas como poligalacturonasa (PG), pectinmetilesterasa (PME), endo-1,4-β-glucanasa, α-arabinosidasa y β-galactosidasa, entre otras (Rodríguez-Félix *et al.*, 2011),
- El daño sufrido por la membrana celular, que resulta en pérdida de agua intracelular, provocando pérdida de turgencia de las células (Voisine *et al.*, 1993; Willemot *et al.*, 1996).

Cabe recordar que la firmeza es frecuentemente utilizada para establecer el grado de madurez de muchas especies frutales y representa también un indicador de su vida útil potencial (Gutiérrez et al., 2007). En el caso típico de los duraznos, este parámetro disminuye de manera importante con el avance de la maduración (Orazem et al., 2013; Rodríguez-Félix et al., 2011; Victoria-Escamilla et al., 2013). Esto se evidencia en los datos del presente ensayo, en donde se observa un ablandamiento de las frutas con el aumento del tiempo de almacenamiento, provocando la aplicación de los tratamientos de irradiación una disminución adicional de la firmeza.

El alto poder de penetración de la materia propia de los rayos gamma, descripto en la sección 1.6.4., además de garantizar una adecuada homogeneidad de la dosis, explicaría el hecho de que la piel no interfiera de manera significativa sobre el efecto de los tratamientos de irradiación en las rodajas. En contraposición, algunas diferencias encontradas con respecto a las muestras con y sin piel, principalmente en los parámetros cromáticos, podrían estar asociadas al efecto propio del procesamiento mínimo sobre las muestras sin piel, dado que los tejidos vegetales se encuentran expuestos en mayor medida a los daños físicos y fisiológicos. Por lo tanto, para los próximos ensayos se decidió trabajar con muestras de durazno con piel.

4.1.4. Conclusiones

En base a los resultados del ensayo preliminar, pudo diseñarse un sistema experimental que probó ser exitoso para encarar los objetivos propuestos en la presente tesis. Además, se aplicaron tratamientos de irradiación gamma a dosis recomendadas por la bibliografía. En cuanto a los parámetros cromáticos, se observó que es necesaria una barrera adicional para controlar efectivamente el pardeamiento enzimático. En cuanto a la firmeza, los resultados sugieren experimentar nuevamente el efecto de la irradiación en otras variedades, para evaluar el potencial efecto varietal. Para optimizar el sistema, se decidió ensayar en los próximos experimentos únicamente muestras de durazno con piel y evaluar el uso de films con una menor permeabilidad al oxígeno, de manera de minimizar los procesos de oxidación y contribuir a una mejor conservación del producto. Luego de la realización de este ensayo, se planteó la necesidad de incorporar a los próximos estudios la evaluación de distintos parámetros bioquímicos, en especial aquellos asociados a la actividad enzimática y la capacidad antioxidante.

4.2. CAPÍTULO 1

Efecto de la aplicación de irradiación gamma y envasado en atmósferas modificadas sobre aspectos morfológicos y fisicoquímicos de duraznos mínimamente procesados



4.2. Capítulo 1: Efecto de la aplicación de irradiación gamma y envasado en atmósferas modificadas sobre aspectos morfológicos y fisicoquímicos de duraznos mínimamente procesados

4.2.1. Objetivos específicos

Una vez definido un sistema general de procesamiento y envasado en los ensayos preliminares, el siguiente paso fue la optimización de las condiciones del procesamiento por irradiación y la evaluación de la aptitud de diferentes variedades de duraznos para este tipo de proceso. Además, se profundizó el estudio incorporando el análisis de distintos aspectos físicos, morfológicos y bioquímicos de relevancia, a fin de comprender mejor el efecto de los tratamientos sobre la calidad del producto irradiado. Paralelamente, se incorporó a los ensayos el análisis de diferentes parámetros sensoriales, para caracterizar al producto y evaluar los efectos de la tecnología sobre los mismos.

4.2.2. Resultados

A continuación, se presentan las imágenes de muestras de durazno cv. Forastero y Ruby Prince, controles (sin irradiar) y tratadas por irradiación a 1,0 kGy al día 14 del almacenamiento refrigerado, las cuales no mostraron entre sí diferencias apreciables en cuanto a los aspectos visuales (Fig. 37).

Para corroborar que la aplicación del tratamiento de irradiación no haya producido un aumento significativo de la temperatura en el producto durante el proceso, se presenta en la Figura 38 el registro de temperatura durante el tratamiento de irradiación, incluyendo las etapas de preparación previas, aplicación in situ de rayos gamma y la salida posterior al tratamiento. Considerando la tasa de dosis informada por CNEA (1,9 kGy/h), la duración total del proceso de irradiación propiamente dicho fue de aproximadamente 0,53 h, con una dosis establecida de 1,0 kGy, registrándose durante la aplicación un aumento de temperatura de tan sólo 1 °C.

Por otro lado, la Tabla 13 describe la composición gaseosa del espacio de cabeza de las bandejas envasadas para cada día de almacenamiento estudiado. Inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos, el consumo de O_2 y la producción de CO_2 aumentaron, lo que se acentuó durante el almacenamiento refrigerado. Tras 14 días de almacenamiento, la composición de O_2 varió del 19 al 10%, mientras que la composición de CO_2 aumentó del 3 al 15%.

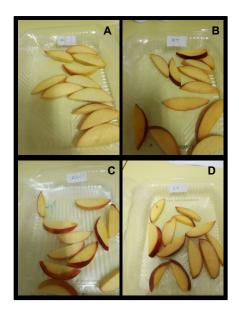


Fig. 37: Duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y cv. Ruby Prince a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy).

(A) Forastero 0 kGy; (B) Forastero 1,0 kGy; (C) Ruby Prince 0 kGy; (D) Ruby Prince 1,0 kGy.

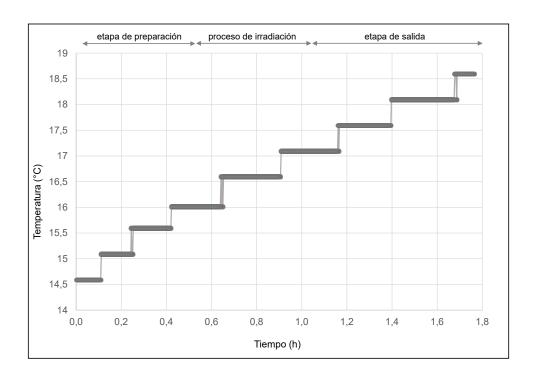


Fig. 38: Mapeo de la temperatura de duraznos mínimamente procesados durante el tiempo de aplicación de los tratamientos de irradiación gamma a 1,0 kGy (1,76 h), incluyendo la etapa de preparación (0,49 h), la exposición a rayos gamma (0,53 h) y la etapa de salida (0,74 h).

Tabla 13: Análisis de la composición gaseosa del espacio de cabeza de las bandejas envasadas de duraznos mínimamente procesados, durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

Composición gaseosa					
Tiempo de almacenamiento (días)	Concentración O ₂ (%)	Concentración CO ₂ (%)			
0	$19,1 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$			
7	11,3 ± 1,5	10.9 ± 1.6			
14	$10,0 \pm 1,3$	$15,4 \pm 1,6$			

Parámetros cromáticos

Los resultados de este ensayo indican que el tratamiento de irradiación no tuvo un efecto importante sobre los parámetros cromáticos (Tabla 14). En particular, el parámetro L* no mostró diferencias significativas en cv. Ruby Prince por efecto del tratamiento ni del almacenamiento, mientras que sólo se observó una disminución significativa en las muestras tratadas de cv. Forastero, aunque únicamente al día inicial de conservación.

Con respecto a C*, este parámetro también sufrió una significativa reducción de su valor en ambas variedades, sobre todo al día 14 de almacenamiento, ligado a la disminución de la saturación del color. Sin embargo, se observa en cv. Forastero que C* resultó siempre mayor en las muestras tratadas.

En relación con el parámetro h°, el mismo disminuyó significativamente durante el almacenamiento para las muestras control de ambas variedades, mientras que en las muestras irradiadas se observó en cv. Forastero una disminución de este parámetro al día 0, el cual se mantuvo en el tiempo; en cambio, en el caso de cv. Ruby Prince, no hubo diferencias significativas en este parámetro entre los distintos tratamientos. Además, a diferencia de las muestras control, en las muestras tratadas de esta variedad no se observó una disminución en el valor de h° durante el almacenamiento.

Tabla 14: Parámetros cromáticos del sistema CIE L* C* h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y Ruby Prince a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

		ev.					
Parámetros	Tiempo de almacenamiento	Forastero		Ruby Prince			
cromáticos	(días)	Dosis (kGy)					
		0	1,0	0	1,0		
	0	$74,9^{aA}$	72,3 ^{bB}	75,0 ^{aA}	75,8 ^{aA}		
L*	7	75,8 ^{aA}	75,5 ^{aA}	76,4 ^{aA}	76,4ªA		
	14	75,8 ^{aA}	74,0 ^{aAB}	74,6 ^{aA}	75,9 ^{aA}		
	0	40,0 ^{bA}	42,5ªA	$40,0^{\mathrm{aA}}$	39,4ªA		
C*	7	36,9 ^{bB}	39,4ªB	38,8ªA	39,2ªA		
	14	36,7 ^{aB}	37,6 ^{aB}	36,8 ^{aB}	36,8 ^{aB}		
	0	92,5 ^{aA}	88,5 ^{bA}	90,3 ^{aA}	90,6 ^{aA}		
h°	7	87,9 ^{aB}	88,5ªA	89,1 ^{aAB}	89,7 ^{aA}		
	14	88,4ªB	86,8 ^{aA}	87,5 ^{abB}	$90,0^{aA}$		

Para cada variedad y por cada parámetro cromático, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0.05).

Firmez.a

Los resultados del presente ensayo muestran que, para ambas variedades, la aplicación del tratamiento de 1,0 kGy disminuyó significativamente la firmeza de los duraznos (Fig. 39 A y B). Se destaca, en ambas variedades, que si bien en las muestras control los valores iniciales fueron mayores, la reducción de la firmeza debido al proceso de maduración durante el almacenamiento se evidenció de forma más acelerada que en las muestras

irradiadas. Por el contrario, las muestras irradiadas de cv. Forastero no presentaron diferencias significativas en este parámetro durante todo el almacenamiento, manteniéndose sus valores constantes a través del tiempo, mientras que las muestras irradiadas de cv. Ruby Prince presentaron este mismo comportamiento sólo hasta el día 7 de almacenamiento. Al igual que en el ensayo preliminar, esto indicaría que, a pesar de la reducción de firmeza inicial, la irradiación induce una mayor estabilización de la firmeza durante el almacenamiento, lo cual constituye un aspecto positivo del tratamiento de irradiación. Las diferencias observadas entre las variedades ensayadas mostraron la importancia de incluir en este tipo de estudios la evaluación de la aptitud varietal.

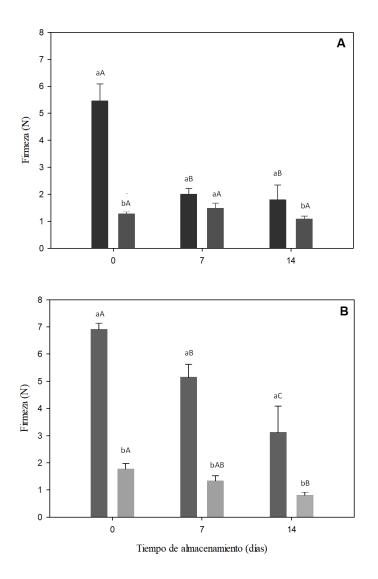


Fig. 39: Evaluación de firmeza determinada en duraznos mínimamente procesados a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

(A) cv. Forastero: (■) 0 kGy, (■) 1,0 kGy; (B) cv. Ruby Prince: (■) 0 kGy, (■) 1,0 kGy.
 Para cada variedad, letras minúsculas diferentes representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0,05) y letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0,05).

Análisis sensorial

En la Tabla 15 se presentan las evaluaciones realizadas para cada una de las muestras al día inicial de almacenamiento.

Tabla 15: Perfil sensorial de duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y Ruby Prince a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) al día inicial de almacenamiento a 4 °C. Escala 0 – 10 puntos.

		cv.					
T.	Propiedad sensorial	For	astero	Ruby Prince			
Tropicula sensoriai		Dosis (kGy)					
		0	1,0	0	1,0		
IA	Intensidad de color	4,8 ^b	6,1ª	8,1ª	8,0ª		
APARIENCIA	Homogeneidad	4,8 ^b	6,0ª	3,5ª	3,4ª		
ARI	Brillo	0,1ª	0,1ª	0,1 ^b	2,5ª		
AP	Deshidratación	0,0ª	$0,0^{a}$	$0,0^{a}$	$0,0^{a}$		
	Intensidad total	4,1ª	4,2ª	2,3 ^b	4,8ª		
OLOR	Durazno	1,0 ^b	3,1ª	1,2 ^b	3,0ª		
OL	Verde	2,1ª	2,0ª	3,1ª	1,1 ^b		
	Sobremaduro	$0,0^{a}$	$0,0^a$	0,3ª	0,2ª		
0	Amargo	2,0ª	2,0ª	1,9ª	2,1ª		
GUSTO	Dulce	2,0 ^b	3,0ª	$0,6^{b}$	2,1ª		
9	Ácido	2,1ª	1,0 ^b	4,8ª	1,9 ^b		
	Intensidad total	4,0 ^b	6,0ª	4,0 ^b	6,1ª		
)R	Durazno	3,0 ^b	5,0°	1,4 ^b	5,1ª		
FLAVOR	Verde	3,1ª	$2,0^{b}$	5,4ª	$2,0^{b}$		
FL	Astringente	0,1ª	1,0ª	0,2ª	0,3ª		
	Pasado/Fermentado	0,1ª	$0,1^{a}$	0,1ª	0,2ª		
A	Dureza	6,0ª	2,1 ^b	7,9ª	2,0 ^b		
EXTUR. BUCAL	Jugosidad	4,1 ^b	4,9ª	2,2 ^b	4,9ª		
TEXTURA BUCAL	Crujiente	6,1ª	1,0 ^b	7,9ª	1,0 ^b		
L	Pastoso	0,1ª	$0,0^{\mathrm{a}}$	0,2ª	0,4ª		

Para cada variedad y por cada descriptor sensorial, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre tratamientos al día inicial de almacenamiento a 4 $^{\circ}$ C, según test de Tukey (p < 0,05).

Observando los datos obtenidos de las muestras de ambas variedades, los cambios más pronunciados estuvieron dados para:

- **Apariencia:** Intensidad y homogeneidad de color; brillo

Olor: Intensidad total; durazno; verde

Gusto: dulce; ácido

- *Flavor*: Intensidad total; durazno; verde

- **Textura bucal:** Dureza; jugosidad; crujiente

En primer lugar, los resultados de percepción de la apariencia evidencian un aumento significativo de la intensidad y homogeneidad de color en las muestras tratadas de cv. Forastero, coincidente con el aumento de C^* , mientras que la percepción del brillo aumentó (p < 0,05) para las muestras tratadas de cv. Ruby Prince.

Además, los resultados de percepción de olor evidencian que las muestras de Ruby Prince tratadas fueron las que presentaron mayor intensidad en esta propiedad sensorial. Por otra parte, la percepción del descriptor "olor a durazno" aumentó de manera significativa tanto en las muestras irradiadas de Forastero como en las de Ruby Prince, lo cual sugiere una mayor liberación o aumento de la concentración de compuestos volátiles típicos de los duraznos, como el benzaldehído. Asimismo, esto se relaciona directamente con la disminución de percepción de "olor a verde" que se observa en las muestras tratadas de la variedad Ruby Prince. Todos estos cambios en los descriptores del olor están vinculados probablemente a la aceleración inicial de la maduración causada por la irradiación.

En cuanto a los gustos básicos y *flavor*, los resultados mostraron una tendencia similar a la de los descriptores del olor. Para intensidad total y sabor a durazno, correspondientes al *flavor*, las muestras irradiadas a 1,0 kGy de ambas variedades presentaron una mayor intensidad (p < 0,05) con respecto a las muestras sin irradiar. Respecto a los descriptores sabor verde y gusto ácido, las muestras control presentaron los mayores *scores* de intensidad, pudiendo relacionar este descriptor con el sabor de los frutos inmaduros. Por otra parte, la percepción del descriptor dulce fue más intensa para las muestras tratadas, vinculado probablemente a la degradación de hidratos de carbono y su conversión en azúcares simples solubles, de mayor poder endulzante. Esto explicaría la mayor percepción del gusto dulce.

En relación con los descriptores de textura bucal, los resultados de este ensayo muestran que en las muestras irradiadas en dosis de $1,0~\rm kGy$, de ambas variedades, se presentó una menor percepción de dureza y sensación menos "crujiente" respecto a las muestras control, lo cual se correlaciona de manera estrecha con los resultados obtenidos en la medición instrumental de firmeza. Con respecto al descriptor de jugosidad, en las muestras irradiadas a $1,0~\rm kGy$ de ambas variedades se presentó una mayor percepción (p < 0,05) de este atributo en relación con las muestras control.

Los resultados de análisis sensorial presentados evidencian una tendencia similar a lo observado en los análisis fisicoquímicos sugiriendo, de igual manera, que la exposición al tratamiento de irradiación de 1,0 kGy provoca en las rodajas de durazno una aceleración inicial de la maduración.

Análisis de la microestructura por microscopía óptica

Para complementar las evaluaciones, se analizó mediante estudios de microscopía óptica y de fluorescencia, la microestructura del tejido parenquimático de las muestras control y tratadas con 1,0 kGy correspondientes al cv. Ruby Prince a los 7 días de almacenamiento refrigerado.

Los resultados evidenciaron, en las micrografías de las muestras control, la presencia de estructuras reproductivas y micelios de hongos, cuando aún esta condición no era perceptible macroscópicamente (Fig. 40A). Contrariamente, las muestras expuestas a irradiación no presentaron desarrollo fúngico (Fig. 40B), lo que evidencia que el tratamiento de 1,0 kGy previno de manera exitosa el desarrollo fúngico durante el almacenamiento en las muestras irradiadas.

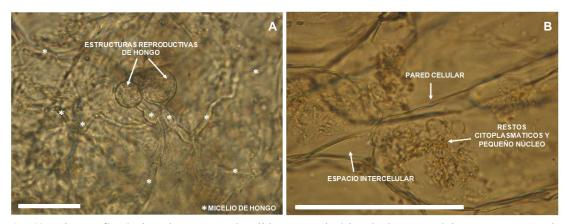


Fig. 40: Micrografías ópticas de muestras de tejido parenquimático de durazno mínimamente procesado, cv. Ruby Prince al día 7 de almacenamiento a 4 °C: (A) Control (0 kGy); (B) tratadas con irradiación gamma (1,0 kGy). Barras blancas: 100 μm.

Además, se evaluó la integridad de las membranas celulares mediante el uso de un colorante supravital, el fluoresceín diacetato (fda). Los resultados de los análisis por microscopía de fluorescencia evidenciaron en las muestras sin irradiar, que al ser efectivamente retenido el compuesto fda por la vacuola y clivado por las esterasas intracelulares, las micrografías presentaron la típica fluorescencia de la fluoresceína. Este hecho muestra que el metabolismo celular está activo, y sus membranas perfectamente conservadas (Fig. 41 A y B). Por su parte, las muestras irradiadas a 1,0 kGy presentaron una cierta reducción de la fluorescencia y una textura granulada indicando, o bien una leve pérdida de integridad de las membranas celulares, o una menor acción de las esterasas (Fig. 41 C y D). Esto podría correlacionarse con la disminución de firmeza, lo cual fue detectado tanto en las mediciones instrumentales como por el panel sensorial.

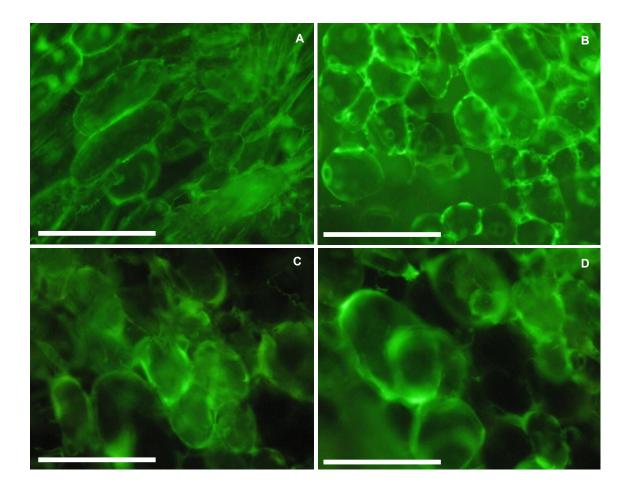


Fig. 41: Micrografías de fluorescencia de distintas muestras de tejido parenquimático de durazno mínimamente procesado tratadas con fluoresceín diacetato (fda), cv. Ruby Prince al día 7 de almacenamiento a 4 °C. (A) y (B) Control (0 kGy); (C) y (D) tratadas con irradiación gamma (1,0 kGy). Barras blancas: 100 μm.

Evaluación de enzimas alterantes

La presente sección de la investigación se centra en la medición de la actividad de las enzimas relacionadas con las principales alteraciones fisiológicas sufridas por este tipo de producto (fruta mínimamente procesada) en general, y por los duraznos en particular. En este sentido, se conoce que el daño mecánico sufrido por el corte de los tejidos altera su compartimentalización y pone en contacto a distintos compuestos fenólicos con la enzima PPO, la cual, en presencia de oxígeno, cataliza reacciones que provocan la oxidación de dichos compuestos resultando en el denominado pardeamiento enzimático. En este proceso de alteración juega también un papel importante la enzima POD, la cual cataliza reacciones que provocan, además, cambios en el sabor y pérdidas en la calidad nutricional de las frutas.

Por otra parte, las frutas, al respirar, consumen oxígeno y liberan dióxido de carbono. Dado que este tipo de producto es envasado en films de permeabilidad reducida a los gases, si la concentración de oxígeno en el espacio de cabeza disminuye por debajo de un cierto valor crítico, se produce el cambio de metabolismo aeróbico a uno fermentativo. Además de las alteraciones que ocurren a nivel de los tejidos, el cambio a este tipo de metabolismo puede evidenciarse por la inducción de la enzima ADH y la producción de etanol. Este último representa uno de los principales productos de la reacción, y se asocia a su vez al desarrollo de los denominados *off-flavors*. De esta forma, el objetivo de esta parte del estudio fue evaluar el efecto de los tratamientos de irradiación sobre la actividad de estas enzimas y la producción de etanol, de modo de monitorear, mediante estos indicadores, el desarrollo de las alteraciones mencionadas.

Los resultados muestran que el tratamiento de irradiación de 1,0 kGy provocó la reducción de la actividad de la enzima PPO (aproximadamente en un 16% para cv. Forastero y 25% para cv. Ruby Prince, en esta última variedad siendo estadísticamente significativa), (Fig. 42A). Como se constató en análisis previos, la variedad constituye un factor importante que influye sobre el efecto evaluado. Así, en la misma Figura se evidencia que al día 14 de almacenamiento, las muestras de cv. Forastero irradiadas a 1,0 kGy presentaron una actividad similar a la de las muestras sin irradiar, mientras que para cv. Ruby Prince, se acentuó el efecto inhibitorio sobre este enzima, lográndose una reducción de aproximadamente un 30% (p < 0,05).

Respecto a la enzima POD, los resultados del presente ensayo indican que el tratamiento de irradiación provocó, en ambas variedades, un aumento inicial de la actividad enzimática, por efecto del estrés causado por el proceso. Sin embargo, este aumento se revirtió durante el almacenamiento, observándose al día 14, valores de actividad significativamente menores (p < 0.05) en las muestras irradiadas a 1,0 kGy con respecto a las muestras control (Fig. 42B).

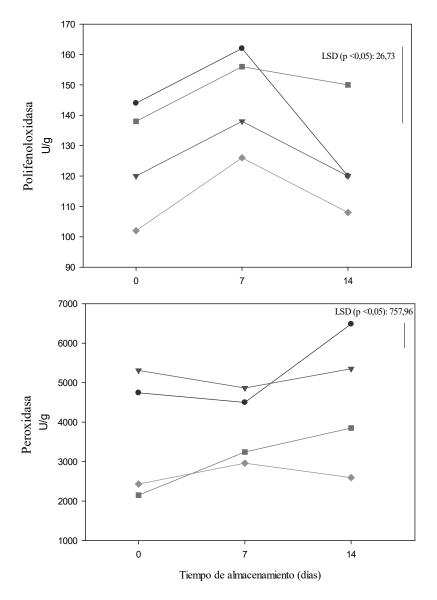


Fig. 42: Actividad enzimática en duraznos mínimamente procesados de diferentes cultivares, a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.
(A) Actividad polifenoloxidasa (PPO); (B) Actividad peroxidasa (POD).

(●) Forastero 0 kGy, (▼) Forastero 1,0 kGy, (■) Ruby Prince 0 kGy, (♠) Ruby Prince 1,0 kGy.

Respecto a la enzima ADH, no se observaron en general diferencias significativas en su actividad entre muestras control e irradiadas a 1,0 kGy, independientemente de la variedad y del tiempo de almacenamiento (Tabla 16). Por otro lado, se observó al día 14 de almacenamiento un aumento significativo (p < 0,05) en la concentración de etanol en las muestras de cv. Ruby Prince (Tabla 17).

Tabla 16: Actividad enzimática alcohol deshidrogenasa (ADH) en duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y Ruby Prince, a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

Enzima ADH (mU/g de peso húmedo de fruta)					
O.V.	Tiempo de almacenamiento	Dosis (kGy)			
cv.	(días)	0	1,0		
Forastero	0	8,5 ^{aA}	7,3 ^{aA}		
	7	8,1 ^{aA}	6,7 ^{aA}		
	14	8,8 ^{aA}	9,7 ^{aA}		
	0	8,4 ^{aA}	11,6ªA		
Ruby Prince	7	10,4ªA	9,3 ^{aA}		
	14	8,7 ^{aA}	11,6ªA		

Para cada variedad, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0.05).

Tabla 17: Concentración de etanol en duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y Ruby Prince, a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

Concentración de etanol (mg/l)					
av.	Tiempo de	Dosis (kGy)			
cv.	almacenamiento (días)	0	1,0		
	0	$\mathrm{ND}^{\mathrm{aA}}$	ND ^{aA}		
Forastero	7	$\mathrm{ND}^{\mathrm{aA}}$	5,4 ^{aA}		
	14	$\mathrm{ND}^{\mathrm{aA}}$	$\mathrm{ND^{aA}}$		
	0	$\mathrm{ND}^{\mathrm{aA}}$	$\mathrm{ND^{aA}}$		
Ruby Prince	7	8,4 ^{aA}	$\mathrm{ND^{aA}}$		
	14	65,9 ^{aB}	58,5 ^{aB}		

ND: No detectado. Para cada variedad, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0,05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0,05).

Fenoles totales y Capacidad antioxidante

Los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante y del contenido de fenoles totales evidencian un importante efecto varietal intrínseco, el cual se refleja en la diferencia observada entre las muestras control de ambas variedades al inicio de la conservación, siendo mayor el valor para cv. Forastero (Fig. 43). En consecuencia, sería de esperar que el efecto de la irradiación sobre los compuestos antioxidantes sea también diferente en ambas variedades. Se visualiza un aumento significativo del contenido de fenoles totales en cv. Forastero irradiado a 1,0 kGy, particularmente al día 7 (Fig. 43A).

Por otra parte, es importante mencionar que, para una adecuada evaluación de la capacidad antioxidante, se aconseja en general su determinación mediante distintos métodos que aborden diferentes criterios de análisis, por lo que en el presente trabajo se utilizaron los métodos de FRAP (poder reductor), DPPH y ABTS (efectividad en la captación de radicales y electrones, respectivamente).

Los resultados del presente ensayo evidenciaron, en el análisis por el método FRAP, una tendencia similar a la obtenida en la medición del contenido de fenoles totales. Así, el potencial antioxidante reductor, medido por este método, presentó un aumento significativo en las muestras irradiadas de cv. Forastero sólo al día 7 de almacenamiento (Fig. 43B).

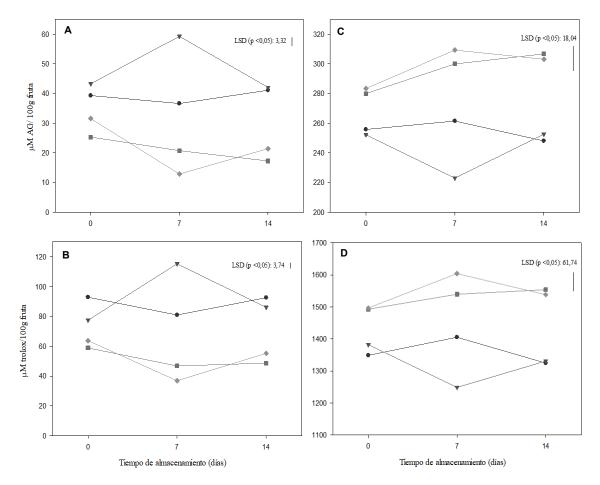


Fig. 43: Fenoles totales y capacidad antioxidante en duraznos mínimamente procesados cv. Forastero y Ruby Prince, a dosis de irradiación (0; 1,0 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C. (A) Fenoles totales; (B) FRAP; (C) DPPH; (D) ABTS.

(●) Forastero 0 kGy, (▼) Forastero 1,0 kGy, (■) Ruby Prince 0 kGy, (♠) Ruby Prince 1,0 kGy.

Por su parte, los otros dos análisis evidenciaron la misma tendencia descripta anteriormente, una neutralización mayor tanto del radical DPPH como del compuesto ABTS en las muestras irradiadas a 1,0 kGy con respecto a las muestras control en cv. Forastero, particularmente durante el día 7 de almacenamiento (Fig. 43 C y D). Este fenómeno podría estar relacionado con el aumento de fenoles totales por efecto de la irradiación, ya que los mismos tienen la capacidad en frutas de interactuar con los

radicales libres para ejercer el rol antioxidante. Sin embargo, las muestras de cv. Ruby Prince no mostraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a la neutralización de los radicales DPPH y ABTS.

4.2.3. Discusión

La presente investigación mostró que la temperatura interna de la fruta aumentó solamente alrededor de 1,0 °C durante el tratamiento con irradiación a 1,0 kGy, lo que concuerda con el valor estimado mediante la información reportada en la literatura, considerando el hecho de que una dosis absorbida de 1,0 kGy equivale en energía térmica a un aumento de la temperatura de 0,24 °C en 1 g de agua (*ver sección 1.6.5.*). Es importante mencionar que el contenido de agua de los duraznos amarillos se estima en casi el 88,9 % (USDA, National Nutrient Database, 2019). La ligera diferencia de temperatura de los duraznos en el ensayo con respecto al valor teórico puede explicarse por el hecho de que el tratamiento de irradiación no se aplica, por la estructura disponible en CNEA, en condiciones de refrigeración, permaneciendo las muestras a temperatura ambiente.

Por otra parte, se resalta el hecho de que en este ensayo se optimizaron las condiciones de preservación, al utilizar un sistema de envasado de baja permeabilidad a los gases. En este sentido, diversos estudios informan que los sistemas de *packaging* con films del tipo de alta barrera al oxígeno disminuyen la descomposición interna y extienden la vida útil poscosecha de las frutas mínimamente procesadas, al reducirse las tasas de respiración y el pardeamiento (Ali *et al.*, 2016; Dong *et al.*, 2022).

Una ventaja adicional de este sistema es que, al ser el envase poco permeable a los gases, aumenta el contenido de dióxido de carbono en el espacio de cabeza. Este gas compite por los receptores de etileno, y protege a los tejidos de la pérdida de proteínas de membrana inducida por la irradiación (Kheshti *et al.*, 2019). Por lo tanto, considerando los principios de la tecnología de obstáculos (Ali *et al.*, 2019), puede esperarse que la irradiación, en combinación con este tipo de envasado, represente una tecnología promisoria para el control de los microorganismos y el retraso de la maduración (Janave & Sharma, 2005; Lurie, 1993; Mathew, *et al.*, 2007). Sin embargo hay que remarcar que la cantidad de muestra en cada bandeja es pequeña en relación al tamaño de envase, por lo que si se pensara en una potencial situación comercial, se debería idear una estrategia con atmosferas modificadas específica para el packing comercial.

Respecto a los parámetros cromáticos, los resultados fueron similares a los del capítulo anterior, dado que el tratamiento de irradiación no influyó de manera notable sobre estas variables. Estudios previos en naranjilla demuestran que dosis de hasta 1,0 kGy no afectan la síntesis de pigmentos (Cuvi et al., 2019), mientras que en frambuesas, dosis superiores mostraron cambios de color de rosa a rojo intenso, asociado con el aumento en el contenido de antocianinas en la fruta (Bortoletto, 2012). No obstante, es necesario evaluar la aptitud varietal para este proceso, dado que, en particular, las muestras irradiadas de cv. Forastero manifestaron un aumento en la saturación del color, probablemente por un efecto de la aceleración inicial de la maduración experimentada durante la exposición a la irradiación. Por su parte, los resultados evidenciaron una menor influencia del almacenamiento sobre los parámetros cromáticos respecto al capítulo previo, debido al efecto beneficioso de la atmosfera modificada en virtud de la baja permeabilidad del envase. Esto permitió que la tasa de respiración y la concentración de oxígeno se hayan reducido y, en consecuencia, los pigmentos responsables del color fueran afectados en menor medida (De la Vega et al., 2017; López Valenzuela et al., 2011; Majidi et al., 2014).

En cuanto a la reducción de firmeza por el tratamiento de irradiación, según lo reportado por la bibliografía, este efecto sería debido al ablandamiento de los tejidos generado por el proceso, relacionado principalmente con la despolimerización parcial de los polisacáridos (hidrólisis de pectinas), las modificaciones de las paredes y membranas celulares, y la actividad aumentada de la enzima PME (Fan, 2013; Melo *et al.*, 2018). En diversos cultivares de durazno como cv. Maygold, Suwanne, Southland y Loring, la firmeza se redujo a dosis iguales o mayores a 1,0 kGy, independientemente de la temperatura de almacenamiento. La pérdida de firmeza, inducida por la irradiación se ha relacionado tanto con el aumento de la velocidad de maduración como con el aumento de la solubilización de las pectinas (Prakash & Ornelas-Paz, 2019).

Es importante considerar que el ablandamiento generado en las muestras tratadas durante la exposición a la irradiación podría resultar beneficioso desde el punto de vista tecnológico, ya que permitiría cosechar a las frutas en un estadio más temprano de maduración, es decir con una mayor firmeza. Esto facilitaría el manejo comercial de las frutas, al prevenir el debilitamiento de sus estructuras, disminuyendo la susceptibilidad al daño mecánico y al ataque de patógenos y, en consecuencia, reduciendo las pérdidas poscosecha (Di Santo *et al.*, 2009). En este sentido, podrían mejorarse los tiempos

asociados a la logística y obtenerse un producto más homogéneo, con la firmeza adecuada que exige el consumidor en el momento que fuera requerido. Por otra parte, se facilitaría el corte y se reduciría el daño debido al mismo durante el procesamiento mínimo.

Cabe recordar que la firmeza es uno de los atributos sensoriales que en su conjunto constituyen la textura de un producto frutihortícola. A su vez, la textura representa una de las características más importantes que generalmente se consideran para determinar una calidad distintiva en frutas y hortalizas. Estas características pueden clasificarse en cuatro diferentes tipos de atributos:

- 1) color y apariencia,
- 2) textura,
- 3) *flavor* y
- 4) valor nutricional.

Diversos estudios demuestran que estos cuatro atributos afectan, en este orden, la percepción de la calidad por parte del consumidor y pueden ser evaluadas desde la compra hasta el consumo. Por ejemplo, el consumidor evaluará en primer lugar la apariencia visual y el color, y seguidamente la textura, el gusto, y el *flavor*. La apariencia de un producto determina, generalmente la aceptación o rechazo del mismo y, por lo tanto, puede considerarse como uno de los atributos críticos de calidad. Es interesante considerar también la existencia de asociaciones entre los diferentes atributos, por ejemplo, los texturales con el *flavor*, o entre el color y el valor nutricional de frutas y hortalizas (Barrett *et al.*, 2010).

En base a esto, los resultados evidencian que el tratamiento de irradiación aumentó la intensidad de diferentes descriptores vinculados a la apariencia general de los duraznos, como la intensidad del color, la homogeneidad y el brillo, siendo estos aspectos seguramente valorados por el consumidor. Este tratamiento también tuvo un efecto significativo sobre el olor, el *flavor* y la firmeza.

Al comparar el efecto sobre los cultivares, los cambios más pronunciados a nivel sensorial se observaron en la variedad Ruby Prince, principalmente en el olor y el *flavor*. Se observa en ambas variedades que ciertos descriptores aumentaron o disminuyeron su intensidad cuando el producto fue irradiado, acelerando la madurez de las rodajas. Por ejemplo, el descriptor "*flavor* a verde" fue levemente percibido en las muestras irradiadas a 1,0 kGy.

Este hecho está probablemente relacionado con el avance del proceso de maduración, el cual se asocia a una disminución significativa del contenido de clorofila, mientras que, por otra parte, se sintetizan compuestos como carotenoides y antocianinas (Barry & le Roux, 2010; Cascales et al., 2005). La maduración se relaciona además con el efecto sobre el olor, siendo las lactonas γ - y δ -decalactona los principales compuestos volátiles responsables del olor en esta fruta, asociados, a su vez, a otros compuestos como terpenos, alcoholes y aldehídos (Jia et al., 2005). Por su parte, los carotenoides, que en duraznos aumentan progresivamente durante la maduración, juegan un rol muy importante en este proceso, no sólo por su participación en la fotosíntesis como pigmentos accesorios, sino por su contribución al olor de las frutas, ya que por acción de enzimas di-oxigenasas se compuestos volátiles como C13-norisoprenoides, también llamados apocarotenoides (Aubert et al., 2003; Rosati et al., 2009). En el caso particular del durazno, los compuestos volátiles más representativos de su perfil, y que han sido identificados en distintas variedades, son: furano, lactona, γ-decalactona, β-ionona, monoterpenos, hexanal, acetato de hexilo, y acetato de etilo, presentando este último un importante aumento en su concentración durante el proceso de maduración organoléptica de la fruta (Brandi et al., 2011; Maulén et al., 2012). Esto mismo ocurre con el benzaldehído, el compuesto volátil mayormente asociado al olor típico a durazno, el cual se libera y/o aumenta su concentración por acción de la enzima β-glucosidasa, por ejemplo, a través de la aplicación de otros tratamientos no térmicos, como las altas presiones hidrostáticas (Sumitani et al., 1994; Xia et al., 2020).

En base a los resultados expuestos, resulta evidente que el tratamiento de irradiación aumentó la percepción de los parámetros sensoriales considerados seguramente como positivos por parte de los consumidores en el producto final, como el sabor a durazno. En este sentido, diversos estudios revelan que los efectos de la irradiación y del almacenamiento sobre los atributos sensoriales específicos dependen en gran parte de la especie y variedad de fruta, aunque en general se verifica una tendencia a mostrar una mayor intensidad del olor, gusto y *flavor* en frutas sometidas a este tipo de tratamiento (Boylston *et al.*, 2002). Si bien otras investigaciones señalan que los atributos sensoriales del *flavor* de frutas y hortalizas irradiadas no se alteran significativamente con dosis entre 1,0 y 2,0 kGy (Fan, 2013), esto no coincide con lo encontrado en el presente trabajo para el caso de duraznos, ya que, por ejemplo, variables asociadas al aspecto sensorial como la acidez, disminuyó con los tratamientos de irradiación. En estudios previos, resultados

similares fueron encontrados en el gusto básico ácido, con una disminución ligera en rodajas de melón, aunque esta condición era apenas detectable cuando la dosis de irradiación aumentaba (Palekar *et al.*, 2004).

Los resultados se relacionan además con el efecto encontrado sobre la textura bucal, evidenciado por una menor firmeza y crocancia, y una mayor jugosidad percibidas en las muestras irradiadas durante el almacenamiento. Esto estaría relacionado estrechamente con el efecto de la irradiación, al producirse el ablandamiento de los tejidos y la consiguiente liberación de agua, compuestos volátiles y azúcares, los cuales representan importantes componentes del *flavor* de la fruta. Es de destacar que un aumento en la jugosidad es percibido en general por el consumidor como un aspecto positivo (Bonany *et al.*, 2014; Kelley *et al.*, 2016).

Estudios previos revelaron también que la percepción sensorial de la pérdida de firmeza se manifiesta a partir de dosis de 0,6 kGy (McDonald *et al.*, 2012). Además, si bien la pérdida de firmeza depende en gran medida de la variedad, la dosis de irradiación también representa un factor importante (Drake & Neven, 1998; Hussain *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2010). Este fenómeno fue consistente en distintas frutas tales como frambuesas, kiwis, arándanos, algunas variedades de manzanas, algunas variedades de pera, papaya, naranjas, lechuga y tamarindos, entre otros (Prakash & Ornelas-Paz, 2019).

En cuanto al efecto sobre la prevención de alteraciones por agentes biológicos, los estudios de microscopía realizados en el presente trabajo evidencian que las muestras expuestas a dosis de irradiación de 1,0 kGy no presentaron desarrollo fúngico. Existen diversos estudios que evidencian la efectividad de la irradiación gamma para reducir la contaminación bacteriana y fúngica durante el manejo poscosecha, habiéndose reportado que dosis entre 0,5 y 2,0 kGy pueden destruir bacterias aeróbicas, levaduras y mohos (Kim *et al.*, 2009). En este sentido, investigaciones previas muestran que la irradiación es capaz, en duraznos, de inactivar microorganismos como *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus stolonifer* y *Molinilia fructicola*. Los valores D₁₀ reportados fueron de 0,14 kGy (*B. cinerea*), 0,23 kGy (*P. expansum*), 0,16 kGy (*R. stolonifer*) y 0,16 kGy (*M. fructicola*), (Kim *et al.*, 2010). Este tipo de tratamiento puede tener también una acción sinérgica para controlar el desarrollo de mohos si se combina con una atmósfera con alto contenido de dióxido de carbono, como la generada en el presente ensayo en el interior de los envases. En otros productos como frutillas envasadas, la combinación de

una atmósfera con 5% de O₂ y 10% de CO₂ con un tratamiento de irradiación de 1,0 kGy controló efectivamente la incidencia de los hongos *B. cinerea* por 14 días de almacenamiento a 4°C (Jouki & Khazaei, 2014).

Es importante mencionar que cuando una célula o tejido experimenta un marcado estrés por causa del tratamiento aplicado, uno de los primeros síntomas que manifiesta es la disrupción de la permeabilidad de las membranas celulares, lo cual provoca que las células pierdan su capacidad de retener solutos, entre ellos los iones. En función de esto, la cantidad de electrolitos presentes en los espacios intercelulares constituye otro indicador de sensibilidad que permite evaluar la integridad de las membranas. Esta pérdida de iones puede ser fácilmente evaluada a través de la medición del aumento de conductividad de una solución que se ponga en contacto con trozos de tejido. En base a esto, estudios previos muestran que, cuando se aplican dosis superiores a 1,0 kGy, se produce una gran pérdida de electrolitos en productos como lechuga cortada (Fan & Sokorai, 2002; Fan et al., 2003b), cebolla de verdeo y cilantro (Fan et al., 2003a), arilos de granada (Pourebrahimi et al., 2020) y manzana (Kheshti et al., 2019). En otras investigaciones en las que se midió la fuga de electrolitos en 12 tipos distintos de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, se encontró que el aumento de la liberación de electrolitos era linealmente proporcional a la dosis de radiación para tratamientos entre 0,1 y 3,0 kGy (Fan & Sokorai, 2005). Estas evaluaciones representan una forma rápida de determinar la tolerancia a la radiación, y resultan coincidentes con lo encontrando en los estudios de microscopía de fluorescencia del presente ensayo.

Respecto a los procesos bioquímicos, el ensayo actual evidenció el efecto de la irradiación sobre la reducción de la actividad de la PPO. En este caso, el fenómeno constituye un aspecto positivo, ya que indicaría que este tipo de tratamiento podría limitar el desarrollo de pardeamiento enzimático, que es una de las principales alteraciones fisiológicas en las frutas. Como fuera mencionado, otra de las enzimas involucradas en este proceso es la POD, la cual pertenece a la familia de las oxidorreductasas y cataliza reacciones usando oxígeno o peróxido como aceptor de hidrógeno. Cuando se usa esta enzima como indicadora, se espera que un mayor grado de inactivación se correlacione con un mejor mantenimiento de la calidad de los productos en el tiempo (Barreiro & Sandoval, 2001; Jamali *et al.*, 2018; Thirumdas & Annapure, 2020). En este sentido, diversos estudios muestran el rol de la POD en el deterioro de la calidad sensorial de los vegetales procesados, principalmente a través del desarrollo de sabores extraños. Estos cambios de

sabor y color mediados por esta enzima son principalmente debidos a la transformación de compuestos fenólicos en quinonas (en presencia de peróxido de hidrógeno) mediante un mecanismo oxidativo, lo cual afecta, además, al valor nutritivo por reacción de éstas con aminoácidos y vitamina C en los alimentos (Kerstner de Oliveira *et al.*, 2021; Pandey *et al.*, 2012).

Por su parte, la enzima ADH y los productos de las reacciones en las que interviene son claves en el desarrollo del metabolismo fermentativo y las alteraciones producidas por el mismo. La ADH se encuentra involucrada en la producción de etanol en frutas expuestas a bajas concentraciones de oxígeno, catalizando la conversión reversible de aldehídos a sus correspondientes alcoholes y su síntesis se induce como respuesta de plantas al estrés del tipo anaeróbico (Manríquez et al., 2006). En consecuencia, la actividad de esta enzima puede incrementarse en productos mínimamente procesados sometidos a una condición de anaerobiosis, como la que podría generarse en el presente estudio, ya que los duraznos fueron envasados con films de baja permeabilidad a los gases. Sin embargo, solo se detectó un aumento en la concentración de etanol durante el almacenamiento en una de las variedades estudiadas, lo cual afectó probablemente la percepción del descriptor sabor pasado/fermentado detectado por el panel sensorial en dicha variedad. Por esta razón, la condición de anaerobiosis generada dentro del envase resultó dependiente únicamente de la variedad, resaltando nuevamente la importancia de evaluar la aptitud varietal para el desarrollo de este tipo de producto.

Es importante resaltar que la capacidad antioxidante de una fruta aumenta con la maduración, aunque también es dependiente de un gran número de factores, entre los que se pueden mencionar el genotipo porta-injerto del árbol y las condiciones climáticas (D'Ambrosio *et al.*, 2013; Orazem *et al.*, 2013). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, generalmente sintetizados a través de la ruta del ácido shikímico (Altuner & Tokusoglu, 2013). En el caso particular del durazno, su capacidad antioxidante se debe principalmente a este tipo de compuestos, entre los que se incluyen a las antocianinas (Garzón, 2008), aunque también a otros grupos como los carotenoides (Carranco *et al.*, 2011). Estos distintos grupos actúan de manera diferencial, ya que la actividad de los carotenoides está más asociada a la inactivación de especies reactivas de oxígeno, mientras que la función de las antocianinas está más relacionada a la protección contra los daños oxidativos (Viñas *et al.*, 2013). En el durazno, en general, la participación de las antocianinas en la capacidad antioxidante total es mayor que la

participación de los carotenos (Gil *et al.*, 2002). La concentración de antocianinas depende de diversos factores, como la variedad de la fruta, su estado de madurez y la fertilización del cultivo (Taín *et al.*, 2011).

Es importante mencionar que la capacidad antioxidante de una fruta es afectada también de manera importante por el tipo de procesamiento al cual se somete a la misma. En el caso particular de la irradiación, los estudios realizados indican que esta tecnología podría bien aumentar o disminuir el contenido de antioxidantes de frutas y hortalizas, dependiendo del tipo de producto y de la dosis. En general, para dosis bajas, los mecanismos protectores del tejido vegetal son suficientes para neutralizar el estrés provocado por la irradiación. Este nivel de dosis podría incluso estimular la producción de compuestos fitoquímicos antioxidantes. Por el contrario, si las dosis son demasiado elevadas, el daño provocado puede ser irreversible, resultando en una disminución de la capacidad antioxidante. Este daño fitotóxico puede, además, afectar negativamente muchos aspectos de la calidad de los productos, incluyendo la apariencia visual, los niveles de antioxidantes, y la proliferación microbiana (Fan, 2005).

En función de esto, se resalta la importancia de realizar ensayos específicos para determinar el efecto de cada tratamiento. Los resultados del presente capítulo fueron coincidentes con distintos estudios realizados previamente con otro tipo de especies frutales. En particular, El-Samahy *et al.*, (2000) demostraron que los compuestos fenólicos en mangos enteros irradiados a dosis entre 0,5 y 1,5 kGy, aumentaban significativamente por la exposición a la irradiación, y se mantenían luego en niveles elevados durante el almacenamiento. Este aumento estaría relacionado al incremento de la actividad de la enzima PAL, precursora de la mayoría de los compuestos fenólicos, dada su participación clave en la denominada ruta fenilpropanoide, la cual forma parte del mecanismo de respuesta vegetal al estrés, tanto de tipo biótico como abiótico. En el caso de duraznos enteros, estudios previos mostraron que el contenido de sólidos solubles y de polifenoles totales aumentaban con el incremento de la dosis de irradiación, en forma paralela a la capacidad antioxidante determinada mediante el método del radical DPPH, evidenciando que la aplicación de irradiación puede mejorar la capacidad antioxidante en las frutas (Kim *et al.*, 2010).

Un aspecto a tener en cuenta es que, si bien la irradiación aplicada en ciertas dosis en FyHMP puede aumentar el contenido de compuestos fenólicos, estos últimos participan

también de las reacciones de pardeamiento en los vegetales oxidándose (Fan, 2005), por lo que un aumento en los compuestos fenólicos puede significar también un aumento del pardeamiento. En consecuencia, la dosis de irradiación debería ser cuidadosamente ajustada para no generar efectos indeseables, debiéndose considerar al mismo tiempo alguna medida de prevención del pardeamiento enzimático, como el uso de atmósferas modificadas, el agregado de agentes antioxidantes u otras estrategias aplicadas en combinación.

4.2.4. Conclusiones

Los resultados del presente capítulo permitieron analizar los aspectos de calidad fisicoquímicos y bioquímicos subyacentes, asociados a la aplicación de tratamientos de irradiación gamma en duraznos mínimamente procesados y envasados en films de baja permeabilidad al oxígeno. Esta combinación fue exitosa para minimizar los procesos de oxidación y pardeamiento, contribuyendo a una mejor conservación del producto. De esta manera, la irradiación podría considerarse también una tecnología efectiva para aumentar la defensa antioxidante y, en consecuencia, limitar los daños oxidativos que se producen durante la maduración.

Además, la comparación de los resultados obtenidos en las mediciones instrumentales con la percepción sensorial del alimento permitió tener una mejor comprensión sobre el alcance de esas mediciones. Si bien algunos estudios muestran que distintos compuestos que influyen sobre los aspectos sensoriales, como azúcares, ácidos orgánicos y compuestos volátiles de las frutas, no son afectados en gran medida por la dosis de irradiación empleada, en otras investigaciones se han reportado cambios menores, por lo que constituye un tema de investigación que debe ser profundizado en los siguientes capítulos. En vista de los hallazgos del presente capítulo, resulta necesario optimizar la aplicación de este tipo de tratamiento con la evaluación del efecto de distintas dosis dentro del rango permitido legalmente y recomendado.

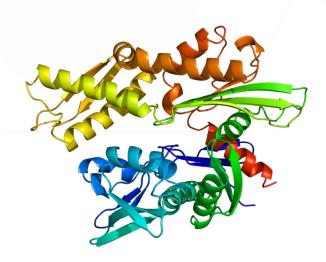
Otro aspecto interesante de este ensayo está relacionado con la diferente aptitud de las variedades de duraznos para este tipo de procesamiento. Así, se evidenciaron algunas diferencias entre los distintos cultivares de durazno, reflejadas principalmente en disparidades de calidad y vida poscosecha del producto final. Este último aspecto resalta la importancia de investigaciones más detalladas sobre la aptitud de distintos cultivares

disponibles comercialmente y mejor adaptados a cada región, para obtener un producto mínimamente procesado de calidad con vida útil extendida.

4.3. CAPÍTULO 2

Optimización del tratamiento de irradiación gamma para la preservación de duraznos mínimamente procesados.

Evaluación fisiológica de la protección por estrés



4.3. Capítulo 2: Optimización del tratamiento de irradiación gamma para la preservación de duraznos mínimamente procesados. Evaluación fisiológica de la protección por estrés

4.3.1. Objetivos específicos

En los ensayos previos se realizaron estudios preliminares para el desarrollo de duraznos mínimamente procesados con vida útil extendida, abordándose cuestiones generales como el estudio del efecto de los tratamientos de irradiación sobre aspectos de calidad, evaluados a través de parámetros fisicoquímicos y bioquímicos. Con la finalidad de profundizar este tipo de estudio, el presente capítulo tuvo como objetivo la optimización del sistema de procesamiento y conservación, evaluando el efecto de distintas dosis de irradiación, para establecer la dosis óptima que prevenga el desarrollo de alteraciones fisiológicas y aumente la vida útil del producto final. En particular se hizo énfasis en la identificación de marcadores bioquímicos que tengan relación con el estrés sufrido por el producto. En este sentido, se evaluó la inducción de las denominadas proteínas de estrés térmico (Heat Shock Proteins - HSP), lo cual constituye una parte relevante de la base fisiológica de la protección frente a distintos tipos de estrés, sobre todo abióticos. Al igual que en el capítulo anterior, se optimizaron las condiciones de conservación mediante el envasado en films de baja permeabilidad a los gases los cuales, debido a la respiración del tejido vegetal, generan en el espacio de cabeza una atmósfera con bajo contenido de O₂ y mayor concentración de CO₂ que el aire atmosférico.

4.3.2. Resultados

Para evaluar el efecto de la dosis de irradiación sobre la apariencia del producto, se muestran a continuación las imágenes correspondientes a las muestras de durazno de cv. Granada, irradiadas a dosis de 0; 0,1; 0,3; 1,0 y 2,5 kGy, luego de 14 días de almacenamiento refrigerado (4 °C), observándose diferencias visuales, principalmente en cuanto al parámetro color (Fig. 44). Se puede distinguir a simple vista el efecto preservador de la irradiación con bajas dosis (entre 0,1 y 1,0 kGy) en las muestras tratadas, cuando se las compara con las muestras sin irradiar, ya que se observa en estas últimas una mayor susceptibilidad al pardeamiento enzimático y al deterioro. En las muestras sometidas a 2,5 kGy, en cambio, se distingue el desarrollo de alteraciones de color (pardeamiento), probablemente asociado a la aceleración del proceso de

maduración por efecto de la irradiación y del almacenamiento, así como a alteraciones en los tejidos.

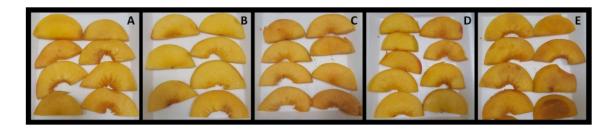


Fig. 44: Duraznos mínimamente procesados cv. Granada, a distintas dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy) al día 14 de almacenamiento a 4 °C.

 $(A) \ 0 \ kGy; (B) \ 0.1 \ kGy; (C) \ 0.3 \ kGy; (D) \ 1.0 \ kGy; (E) \ 2.5 \ kGy.$

Parámetros cromáticos

Los resultados indican que, durante los tiempos de almacenamiento evaluados, se indujeron algunos cambios en los parámetros cromáticos de los duraznos mínimamente procesados sometidos a las diferentes dosis de irradiación (Tabla 18). Es importante destacar que, inmediatamente después de los tratamientos, las muestras irradiadas a 0,1, 0,3 y 1,0 kGy presentaron un incremento significativo de entre 8 y 9% en los valores de L* respecto a las muestras sin irradiar, mientras que, tras 7 y 14 días de almacenamiento, las frutas sometidas a las dosis más bajas (0,1 y 0,3 kGy) mostraron valores de L* similares a los de las frutas no tratadas. Las muestras irradiadas a la dosis más alta (2,5 kGy) mostraron una disminución de un 10% en L*, presentando diferencias significativas con el resto de los tratamientos, especialmente tras 14 días de almacenamiento. Además, la reducción de este parámetro resultó significativa en las muestras irradiadas a dosis mayores o iguales a 0,3 kGy, exclusivamente por efecto de la conservación.

En relación con el parámetro C*, se observó una reducción significativa sólo para las muestras expuestas a mayor dosis: 1,0 kGy respecto a su control (al día 7) y 2,5 kGy respecto tanto al control como a la dosis más baja, de 0,1 kGy (al día 14). Los valores de C* también se vieron reducidos en las muestras expuestas a dosis de 0,3 kGy y 1,0 kGy al día 14, efecto propio del almacenamiento.

En cuanto al parámetro h°, las muestras irradiadas a 0,1 kGy presentaron los valores más altos (p < 0,05) inmediatamente después del tratamiento, aunque después disminuyeron durante el almacenamiento a valores similares a los de las muestras sometidas a otros

tratamientos. De forma similar, se observó en cada uno de estos una disminución (p < 0.05) del parámetro h° con el tiempo de almacenamiento, excepto por las muestras tratadas con 1,0 kGy, las cuales no sufrieron cambios significativos durante los 14 días. Las muestras control y las sometidas al tratamiento de 2,5 kGy fueron las que presentaron los menores valores de h° al final del almacenamiento (14 días), diferenciándose las primeras de las tratadas a 0,1 kGy y las segundas de las muestras correspondientes a todos los tratamientos.

Tabla 18: Evaluación de parámetros cromáticos del sistema CIEL* C* h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

Parámetros	Tiempo de almacenamiento	Dosis (kGy)							
cromáticos	(días)	0	0,1	0,3	1,0	2,5			
	0	62,5 ^{bA}	68,3ªA	67,9ªA	67,9 ^{aA}	63,8 ^{bA}			
L*	7	65,6 ^{abA}	66,8 ^{aA}	64,2 ^{abB}	63,2 ^{bB}	64,1 ^{abA}			
	14	65,6 ^{abA}	69,3 ^{aA}	66,9 ^{abAB}	64,9 ^{bB}	58,9 ^{cB}			
	0	49,1ªA	46,2 ^{bA}	47,5 ^{abA}	46,5 ^{abA}	46,4 ^{abA}			
C*	7	46,7ªA	45,8 ^{abA}	45,8 ^{abAB}	44,1 ^{bAB}	45,6 ^{abA}			
	14	46,9ªA	47,0ªA	45,0 ^{abB}	44,6 ^{abB}	44,4 ^{bA}			
	0	81,0 ^{bA}	83,4 ^{aA}	81,7 ^{bA}	81,7 ^{bA}	80,7 ^{bA}			
h°	7	81,0 ^{aA}	81,6ªB	79,4 ^{bB}	81,4 ^{aA}	80,8 ^{aA}			
	14	78,7 ^{bcB}	81,2ªB	79,9 ^{abB}	80,3 ^{abA}	77,8 ^{cB}			

Para cada parámetro cromático, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes representan diferencias en cada columna debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0.05).

Firmeza

En términos de firmeza, los tratamientos de irradiación provocaron, luego de la exposición, el ablandamiento de los tejidos de manera proporcional a la dosis aplicada, manteniéndose este efecto a lo largo del almacenamiento refrigerado (Fig. 45).

Los valores de firmeza oscilaron entre 2,2 N (muestras sin irradiar) y 1,7 y 1,4 N en las muestras irradiadas a 0,1 y 0,3 kGy respectivamente, observándose la mayor reducción (p < 0,05) en las frutas expuestas a 1,0 y 2,5 kGy (0,74 N; 0,58 N). Esta reducción inicial se mantuvo durante todo el almacenamiento. La inducción del ablandamiento de los tejidos se debe claramente al efecto de la irradiación, ya que no se observaron para esta variedad diferencias significativas, para cada tratamiento, entre los distintos tiempos de almacenamiento.

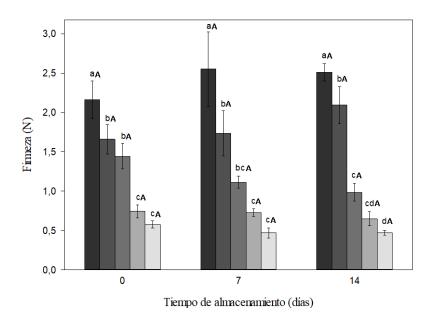


Fig. 45: Evaluación de firmeza determinada en duraznos mínimamente procesados cv. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

(■) 0 kGy, (■) 0,1 kGy, (■) 0,3 kGy, (■) 1,0 kGy, (■) 2,5 kGy.

Letras minúsculas diferentes representan diferencias entre tratamientos en cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0,05). Letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada tratamiento (p < 0,05).

Actividad de enzimas asociadas al pardeamiento

La Figura 46 muestra el efecto de la irradiación sobre la actividad de las principales enzimas asociadas al pardeamiento de duraznos mínimamente procesados (PPO - Figura 46A y POD - Figura 46B), medidas inmediatamente después de los tratamientos. Los resultados evidencian que la actividad PPO no se vio significativamente afectada por las dosis de irradiación aplicadas, mostrando sin embargo un ligero descenso a medida que aumenta la dosis, correspondiendo el valor más bajo a las muestras irradiadas a 1,0 kGy. En el caso de la POD, la actividad disminuyó significativamente al aumentar la dosis de irradiación entre un 19% y un 65%, con un efecto mayor para los tratamientos más

intensos. La actividad más baja correspondió a los duraznos tratados a la dosis más alta (2,5 kGy).

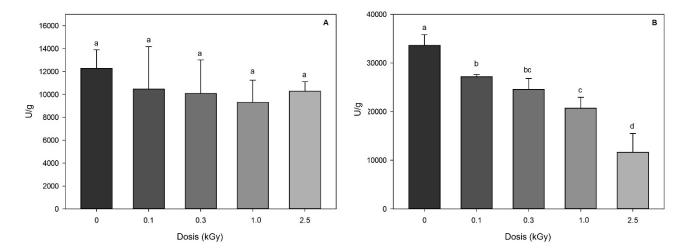


Fig. 46: Actividad enzimática en solución determinada en duraznos mínimamente procesados ev. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy).

(A) Actividad polifenoloxidasa (PPO); (B) Actividad peroxidasa (POD).

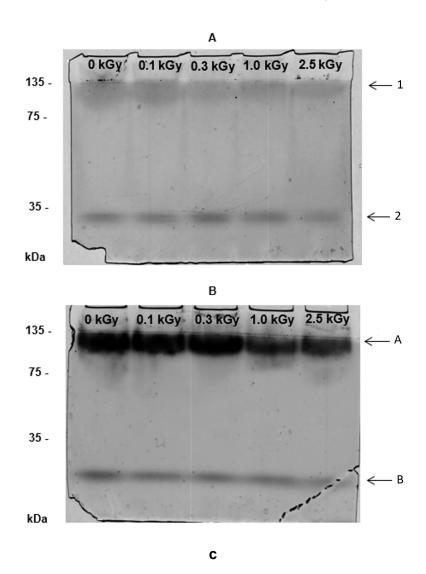
 (\blacksquare) 0 kGy, (\blacksquare) 0,1 kGy, (\blacksquare) 0,3 kGy, (\blacksquare) 1,0 kGy, (\blacksquare) 2,5 kGy.

Para cada enzima, letras minúsculas diferentes representan diferencias al día inicial de almacenamiento a 4° C, según test de Tukey (p < 0.05).

En la Figura 47 se observan las concentraciones relativas de las isoenzimas PPO y POD en geles de actividad (PAGE). En cada caso, se observan bandas específicas correspondientes a dos formas isoenzimáticas en la región de peso molecular comprendida entre 0 y 135 kDa, que a los fines prácticos se denominarán isoenzima "1" e isoenzima "2", para el caso de PPO, e isoenzima "A" e isoenzima "B", para el caso de POD. En el caso de la PPO, la actividad de la isoenzima "1" disminuyó a partir de los tratamientos con dosis de 0,3 kGy, mientras que la actividad de la isoenzima "2" sólo disminuyó en las muestras irradiadas a 2,5 kGy (Fig. 47 A y C).

En el caso de la POD, la actividad de la isoenzima "A" disminuyó considerablemente en las muestras expuestas a las dosis más altas (1,0 y 2,5 kGy), mientras que la actividad de la isoenzima "B" disminuyó progresivamente con el aumento de las dosis de irradiación (Fig. 47 B y C).

El análisis por geles de actividad ayuda a apreciar la inducción, activación y/o inactivación de cada isoenzima en particular, lo que se evidencia claramente por un aumento o disminución en la intensidad de las bandas, según sea el caso, y por la medición de los valores en la escala de grises (bits x pixel) en el análisis densitométrico (Fig. 47C).



	Valores (bits x píxel)							
Dosis (kGy)	PF	20	POD					
	Isoenzima 1 Isoenzima 2		Isoenzima A	Isoenzima B				
0	135,7	132,9	16,7	113,4				
0,1	137,4	131,7	17,6	123,4				
0,3	146,9	119,0	19,9	125,6				
1,0	141,5	124,1	46,5	125,7				
2,5	145,3	133,8	55,2	133,3				
Referencia:								
0	Escal	Escala de grises (bits x píxel) 254						

Fig. 47: Identificación de la actividad isoenzimática determinada por SDS-PAGE blot en duraznos mínimamente procesados cv. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy). (A) Actividad isoenzimática de polifenoloxidasa (PPO). Identificación de isoenzimas 1 y 2; (B) Actividad isoenzimática de peroxidasa (POD). Identificación de isoenzimas A y B; (C) Análisis densitométrico de la región de peso molecular de las isoformas enzimáticas de PPO y POD determinadas en los geles de (A) y (B).

Proteínas de estrés (HSP)

La Figura 48A muestra la imagen del SDS-PAGE de extractos proteicos de duraznos mínimamente procesados tratados a distintas dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy) al día inicial de almacenamiento. Esta metodología permitió detectar un grupo de proteínas inducidas por la irradiación, cuyo peso molecular oscila entre 11 y 40 kDa, lo que es compatible con las características de la familia de proteínas de estrés térmico de bajo peso molecular (sHSP). Su localización en una región del gel con baja densidad de proteínas hizo factible la complementación por densitometría. A partir de este análisis, fue posible estimar las cantidades relativas de proteína inducidas por cada tratamiento, lo que reveló un aumento en la intensidad de 7 bandas específicas (identificadas del "1 al 7") correspondientes a proteínas entre 11 y 20 kDa, particularmente en las muestras irradiadas a dosis de 0,1 kGy (Fig. 48B).

Asimismo, los análisis de *Western blot* permitieron corroborar la pertenencia de 5 de las proteínas mencionadas anteriormente como miembros de la familia de sHSP, las cuales se observan en la región de peso molecular comprendida entre 11 y 20 kDa (identificadas del "3 al 7", siguiendo el mismo orden de numeración anterior). Por su parte, el revelado con anticuerpos monoclonales específicos anti-HSP70 permitió identificar y corroborar que 2 bandas específicas corresponden a proteínas pertenecientes a la familia de las HSP70, presentes en la región de peso molecular comprendida entre 63 y 75 kDa (identificadas como "1" y "2"), (Fig. 49A).

En el primer caso, los resultados evidencian un nivel basal de sHSP en las muestras sin irradiar. Este nivel sólo aumentó en los duraznos expuestos a dosis de 0,1 y 0,3 kGy, y no en las muestras sometidas a dosis más altas (1,0 y 2,5 kGy) (Fig. 49B). Dentro del rango de mayor inducción, las sHSP identificadas como "3", "4" y "5" (peso molecular ~11-17 kDa) presentaron mayor sobreexpresión a dosis de 0,1 kGy, mientras que la sobreexpresión de sHSP "6" y "7" (peso molecular ~18-20 kDa) fue mayor en las muestras expuestas a 0,3 kGy. Respecto a la familia HSP70, se observó la misma tendencia anterior entre los tratamientos estudiados, detectándose una sobreexpresión proteica de HSP70 "1" a dosis de 0,3 kGy, y de HSP70 "2" a dosis de 0,1 kGy.

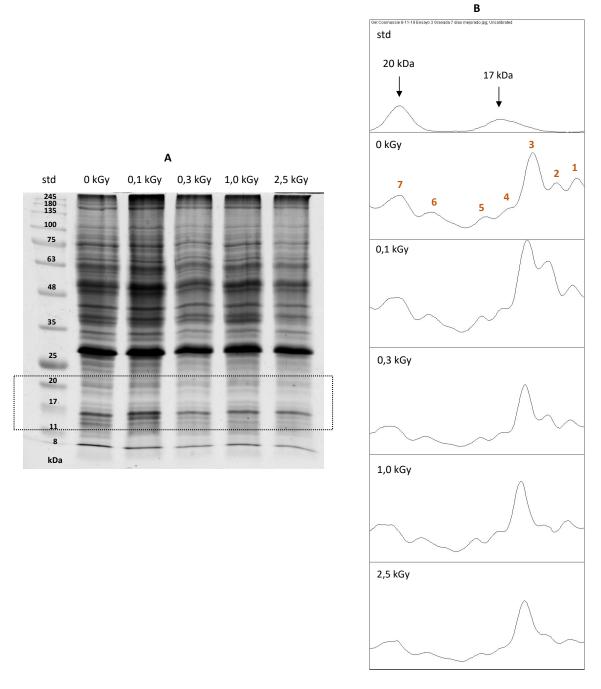
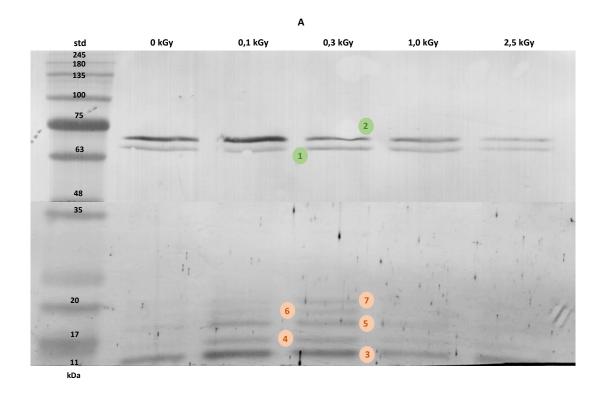


Fig. 48: Detección de la sobreexpresión de proteínas de estrés térmico (HSP) de duraznos mínimamente procesados cv. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy). (A) SDS/PAGE de extractos de proteínas; (B) Análisis densitométrico de la región de bajo peso molecular del gel, (indicada por una línea de puntos en la Fig. 48A).



			В								
		Valores (bits x píxel)									
Dosis (kGy)			sHSP			HS	P70				
(1133)	3	4	5	6	7	1	2				
0	155,3	183,0	185,3	189,8	191,7	133,7	96,4				
0,1	128,7	164,6	165,3	179,6	186,6	133,4	77,6				
0,3	134,3	164,8	166,9	176,4	178,0	132,3	123,8				
1,0	157,5	173,6	173,6	178,9	180,3	133,1	117,9				
2,5	163,3	175,1	171,4	182,8	187,4	140,4	139,6				
Referencia:											
	0	Esc	254								

Fig. 49: (A) Análisis de inmunotransferencia de extractos proteicos de duraznos mínimamente procesados cv. Granada a dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0; 2,5 kGy). Detección de 5 bandas correspondientes a sHSP entre 11 y 20 kDa y 2 bandas correspondientes a HSP70 entre 63 y 75 kDa; (B) Análisis densitométrico de las sHSP y HSP70 determinadas en la inmunotransferencia.

Optimización del tratamiento de irradiación

Considerando el gran número de factores que pueden afectar el resultado final de la aplicación de tratamientos de irradiación gamma, que pueden ser difíciles de prever, resulta evidente la necesidad de optimizar las condiciones de su aplicación, especialmente en alimentos complejos como frutas y hortalizas. En este sentido, para maximizar la calidad del producto final, diversas variables de respuesta deben monitorearse y ajustarse de acuerdo con un estándar deseable a ser obtenido. Este proceso resulta a veces complejo, ya que, en muchos casos alcanzar el objetivo en una de las variables puede tener efectos no deseados sobre otras. Dada la complejidad del proceso de optimización de las variables que permitan maximizar la calidad del producto final, el monitoreo y ajuste de datos requiere de herramientas matemáticas y estadísticas que permitan analizar un gran volumen de datos y predecir el comportamiento de los procesos.

Así, como objetivos del proceso de optimización, se establecieron en el presente estudio las siguientes variables:

- Variable independiente: Dosis de irradiación (0; 0,1; 0,3; 1,0 y 2,5)
- Variables dependientes:
 - 1) Firmeza al día 0 de almacenamiento: Minimización, dado que se busca minimizar la firmeza inmediatamente luego del proceso para alcanzar más rápidamente los valores de firmeza óptimos para el consumo.
 - 2) Firmeza al día 14 de almacenamiento: Maximización, ya que el objetivo es estabilizar el ablandamiento a través del tiempo, para extender su vida útil.
 - 3) Color L* (al día 0 de almacenamiento): Maximización, buscando las muestras de durazno de mayor luminosidad (con una escala que va del 0 negro al 100 blanco).
 - 4) Color h° (al día 0 de almacenamiento): Maximización, traducido en obtener un ángulo cercano a 90 °C (con una escala de 0° = púrpura-rojizo y 90° = amarillo), dado que se busca evitar colores rojizos y pardos que indiquen posibles reacciones de pardeamiento.
 - 5) PPO: Minimización, buscando minimizar el pardeamiento mediante una mayor inactivación enzimática.
 - 6) POD: Minimización. Idem punto 5)

7) sHSP: Minimización, siendo el objetivo aumentar la sobreexpresión de proteínas para una mayor protección frente a distintos tipos de estrés, evaluado por la mayor intensidad de banda en las membranas, referenciando a un valor numérico menor en la escala de grises.

8) HSP70: Minimización. Idem punto 7)

Para cumplir dicho propósito, se creó en primera instancia una matriz de correlación bivariada entre las variables de calidad y bioquímicas, determinadas en función del rango de dosis de irradiación empleado. Este análisis permitió cuantificar la intensidad y dirección de la relación lineal entre cada variable dependiente y la dosis. El procedimiento fue capaz de calcular el coeficiente de correlación lineal o coeficiente de Pearson (r), para lo cual se debe dividir la covarianza entre dichas variables por la raíz cuadrada del producto de sus varianzas (Ecuación 7). Dicho coeficiente puede variar entre -1 a 1, indicando la intensidad y dirección de la relación (Tabla 19).

$$r=rac{\sum \left[\left(x_{i}-\overline{x}
ight)\left(y_{i}-\overline{y}
ight)
ight]}{\sqrt{\Sigmaig(x_{i}-\overline{x}ig)^{2}\,st\,\Sigma(y_{i}\,-\overline{y})^{2}}}$$
 Ecuación (7)

Tabla 19: Interpretación estadística del coeficiente de correlación lineal o coeficiente de Pearson (*r*) entre dos variables.

Valor de r	Interpretación estadística	
r = -1	Las dos variables tienen una correlación perfecta negativa, por lo que se puede trazar una recta con pendiente negativa en la que se encuentren todos los puntos.	r = -1
-1 < r < 0	La correlación entre las dos variables es negativa, por lo tanto, cuando una variable aumenta la otra disminuye. Cuanto más cerca esté el valor de -1 significa que más relacionadas negativamente están las variables.	-1 < r < 0

r = 0	La correlación entre las dos variables es muy débil, de hecho, la relación lineal entre ellas es nula.	r = 0
0 < r < 1	La correlación entre las dos variables es positiva, cuanto más cerca esté el valor de 1 más fuerte es la relación entre las variables. En este caso, una variable tiende a incrementar su valor cuando la otra también aumenta.	0 < r < 1
r = 1	Las dos variables tienen una correlación perfecta positiva, es decir, tienen una relación lineal positiva.	r=1

La Figura 50 representa la intensidad y dirección entre la variable independiente (dosis de tratamiento) y las variables dependientes estudiadas. Para esto se utilizaron las librerías *pandas*, *seaborn* y *matplotlib* de código abierto del programa *Python*. Los resultados indican que se presentó una correlación negativa entre la dosis y las variables firmeza día 0, firmeza día 14 y POD, mientras que existió una correlación positiva entre la dosis y la expresión de sHSP 3, HSP70 1 y HSP70 2, y una correlación débil entre la dosis y el color L*, color h°, PPO, sHSP 4, sHSP 5, sHSP 6 y sHSP 7.

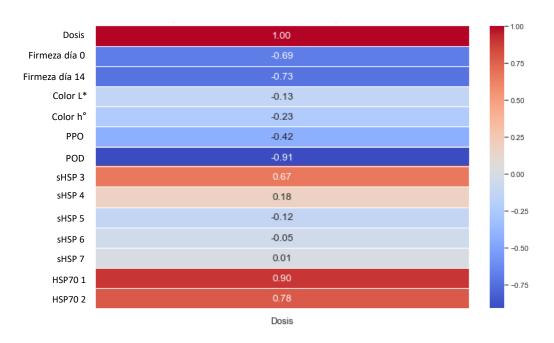


Fig. 50: Matriz de correlación bivariada entre las variables de calidad y bioquímicas determinadas en función del rango de dosis de irradiación empleado. Cálculo de intensidad y dirección de correlación.

Cuando se interpretan las matrices de correlación, no hay un valor de corte universalmente aplicable, ya que la interpretación depende del dominio específico y de los objetivos de análisis. Sin embargo, usualmente se consideran variables con una correlación absoluta superior a 0,5 como significativas. Por lo tanto, considerando dicho umbral, las variables firmeza día 0, firmeza día 14, POD, sHSP 3, HSP70 1 y HSP70 2 son aquellas que podrían estar afectadas de forma significativa por la dosis de irradiación, aunque de manera no causal.

Ante este supuesto, se procedió a incluir dichas variables en la función "desirability" para condensar todas esas respuestas en un solo valor, y sacar las conclusiones respectivas sobre el modelo obtenido. De esta forma, mediante las herramientas de optimización, se estudió la principal variable de proceso (dosis), asociada a los tratamientos de irradiación gamma aplicados en duraznos mínimamente procesados. El método estadístico utilizado integra las ecuaciones de regresión obtenidas para cada variable con la transformación de cada variable respuesta (Yi) en una función individual (desirability, di) (Ecuaciones 8 y 9) cuyos valores están comprendidos entre 0 y 1. De esta manera, si el valor de la respuesta se encuentra fuera de una región aceptable, se le asigna un valor de 0, mientras que, si la respuesta se ajusta a lo deseable, se le asigna un valor de 1.

En el presente trabajo, la función *desirability* fue diseñada de forma tal de optimizar la sobreexpresión de las proteínas de estrés y la inactivación de las enzimas relacionadas a alteraciones, manteniendo a su vez la firmeza adecuada para el producto. Entonces, para la variable para la cual el objetivo era maximizar su respuesta, se trabajó sobre la ecuación:

$$di = \frac{Yi - Ymin}{Ymax - Ymin}$$
 (Ecuación 8)

Donde *Ymin* es el valor mínimo de respuesta que tuvo la variable, e *Ymax* es el valor de respuesta máximo que alcanzó, utilizándose esta ecuación para la firmeza al día 14.

En el caso de la firmeza al día 0 de almacenamiento, la actividad enzimática POD, y la sobreexpresión de sHSP 3, HSP70 1 y HSP70 2, se utilizó una función rediseñada, con el objetivo de definir como valores óptimos a los mínimos obtenidos de las respuestas para esas variables:

$$di = \frac{Ymax - Yi}{Ymax - Ymin}$$
 (Ecuación 9)

De esta manera, las d_is de las respuestas se combinaron en una única función llamada desirability general (D), la cual representa el promedio geométrico de las funciones desirability individuales (Ecuación 10).

El valor D se maximizó luego, utilizando el programa Statistica.

$$D = (d_1, d_2, ..., d_k)^{1/k}$$
 (Ecuación 10)

Donde k es el número de variables. Entonces, como $0 \le D \le 1$, un valor cercano a 1 de D indica que todas las funciones *desirability* individuales se acercarán al valor deseable, y, por lo tanto, el máximo de esa función será considerado como la solución óptima del sistema.

La Figura 51 muestra los gráficos de los perfiles predichos, obtenidos para cada variable respuesta (firmeza día 0, firmeza día 14, POD, sHSP 3, HSP70 1 y HSP70 2), junto con los respectivos perfiles de la función *desirability* para la variable de proceso incluida en este estudio (dosis).

Mediante el análisis de esta información, se pudo predecir que las condiciones de procesamiento óptimas (es decir, las que condujeron al valor máximo de la función desirability general -D- igual al valor 0,52) para el tratamiento de irradiación gamma, estarían representadas por la aplicación de una dosis de 0,25 kGy. Esto conduciría a un producto con los siguientes valores predichos para las variables respuesta: 2,0 N para firmeza al día 0 de almacenamiento; 1,7 N para firmeza al día 14 de almacenamiento; 26782,0 U/g para POD; 147,7 para sHSP 3; 132,9 para HSP70 1; y 102,0 para HSP70 2.

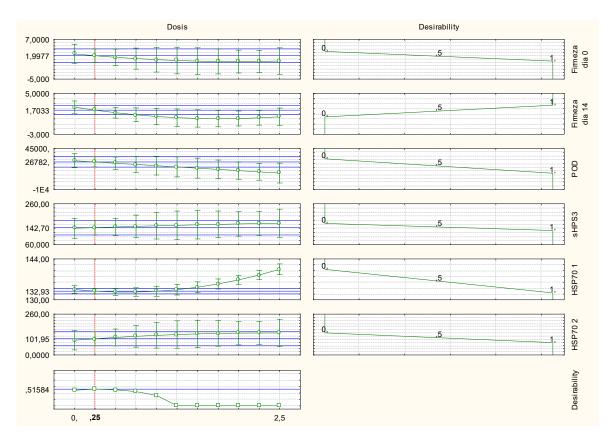


Fig. 51: Optimización simultánea de las condiciones del proceso por irradiación gamma para duraznos mínimamente procesados en función de la variable de proceso (dosis), variables de respuesta predichas y perfiles de la función *desirability*.

4.3.3. Discusión

Los resultados evidencian que la combinación del tratamiento de irradiación aplicado a dosis bajas (0,1 y 0,3 kGy) y el envasado con film de baja permeabilidad al oxígeno permitió estabilizar y preservar los parámetros cromáticos, limitando a su vez el desarrollo de las alteraciones típicas causadas por los procesos de oxidación. Sin embargo, es importante mencionar que la aplicación de dosis demasiado elevadas (2,5 kGy en el presente estudio) puede provocar efectos deletéreos para la conservación de las muestras. Se ha comprobado en estudios previos, que dosis de estos niveles o superiores pueden romper enlaces conjugados de las estructuras cromóforas, provocando alteraciones del color, junto con la aceleración del proceso de maduración (Negut *et al.*, 2012).

Otros estudios en los cuales se comparó la irradiación gamma con tratamientos cuarentenarios más tradicionales informaron que las dosis de irradiación a 0,3 kGy o inferiores fueron eficaces para mantener los parámetros cromáticos en frutas como cerezas, damascos y duraznos frescos, en contraste con la aplicación de bromuro de

metilo, el cual provoca marcadas alteraciones del color (Jesus Filho *et al.*, 2018). Otros cambios importantes, como el ablandamiento y la degradación interna, sólo fueron evidentes para dosis superiores a 0,6 kGy, dependiendo del cultivo (Drake & Neven, 1998). Sin embargo, distintos estudios resultan coincidentes en el hecho de que la pérdida de firmeza es una respuesta que puede ser inducida por la irradiación gamma, dependiendo de la dosis, variedad y estado de maduración al momento del tratamiento (Mditshwa *et al.*, 2017; Wall, 2015).

Desde el punto de vista comercial, la aplicación de dosis bajas (0,1 y 0,3 kGy) puede tener un efecto deseable para los consumidores sobre la firmeza de los duraznos, ya que las frutas de carozo se recolectan en estado inmaduro, para permitir una correcta manipulación poscosecha. Por lo tanto, la irradiación puede ayudar a alcanzar más rápidamente los valores de firmeza óptimos para el consumo, proporcionando un producto homogéneo en el momento en que se requiera. Una estrategia similar es mencionada en estudios previos, en los cuales se utilizaron dosis bajas de irradiación gamma (0,5 kGy) en frutas de papaya como estrés inducido, para acelerar el inicio de la maduración y mejorar, en un corto periodo de tiempo, la firmeza comercial de las frutas (D'Innocenzo & Lajolo, 2007). Sin embargo, el estudio menciona que cuando las muestras se exponen a dosis de radiación mayores a 1,0 kGy se generan altos niveles de radicales libres y ROS, que conducen a daños en la funcionalidad de los materiales celulares. En otra investigación, se obtuvieron resultados similares en peras Bartlett irradiadas en el estadio preclimatérico, cuyo proceso de maduración fue estimulado con dosis en el rango entre 1,0 y 3,0 kGy. No obstante, la irradiación gamma no permitió obtener frutas con la textura blanda y jugosa característica de la pera antes de que se produzcan alteraciones fisiológicas y, por consiguiente, su posterior descomposición (Maxie et al, 1966). Otro estudio llevado a cabo con el objetivo de mejorar la preservación reveló que la aplicación de dosis de 0,4 y 0,8 kGy suprimió los trastornos poscosecha en peras de esta variedad almacenadas a 0 °C y 95% HR por 90 días, sin mermar la calidad de la fruta (Tu, 2020). Por lo tanto, es muy importante la elección de la dosis, según la matriz y el objetivo que se requiera.

Por otra parte, dado que la irradiación gamma puede considerarse como un estrés abiótico, cabría esperar una respuesta fisiológica a esta condición (Jacobo-Velázquez *et al.*, 2021). En coincidencia con esta afirmación, el hallazgo más relevante del presente capítulo fue la evidencia de que la aplicación de tratamientos con bajas dosis de irradiación induce en

duraznos mínimamente procesados una respuesta que puede enmarcarse en la fisiología del estrés de plantas. Mediante análisis electroforéticos e inmunológicos, se pudo detectar la sobreexpresión de la familia sHSP y HSP70, que sólo se verificó en frutas expuestas a bajas dosis de irradiación. Este fenómeno estaría relacionado en tejidos vegetales con la respuesta protectora frente al estrés por calor (Aghdam *et al.*, 2015). Es importante mencionar que hasta el momento, ningún estudio previo había reportado la asociación de este tipo de respuesta con la exposición a tratamientos de irradiación gamma. Es relevante el hecho de que la inducción sólo se haya verificado en el producto expuesto a dosis de 0,1 y 0,3 kGy, que fueron los tratamientos que mostraron un mejor desempeño. Otros estudios también informaron que la aplicación en frutas de dosis de irradiación de alrededor de 0,5 kGy, fueron capaces de ralentizar la tasa de deterioro (Zhao *et al.*, 2020).

Hasta el momento, la respuesta fisiológica y bioquímica provocada por la irradiación no ha sido el foco de investigaciones para optimizar la aplicación de la tecnología en frutas, ya que la eficacia de este tratamiento se ha asociado tradicionalmente a la inactivación microbiana y la concomitante mejora de la calidad fitosanitaria. Sin embargo, teniendo en cuenta la respuesta fisiológica, reflejada en la sobreexpresión de las HSP, el presente capítulo evidencia la existencia de una intensidad (dosis) óptima, más allá de la cual el efecto sería deletéreo, de forma similar a lo reportado previamente para el caso de los tratamientos térmicos (Polenta *et al.*, 2020). De acuerdo con ese hallazgo, las HSP podrían utilizarse como marcador bioquímico asociado a la eficacia del tratamiento, para establecer la dosis óptima de irradiación. Por lo tanto, el presente estudio sugiere que la defensa protectora provocada por la irradiación gamma sería similar a la provocada por otros tratamientos de estrés, que, dentro de un cierto rango de intensidad son capaces de inducir mecanismos de defensa, previniendo la ocurrencia de daños fisiológicos, entre los cuales pueden incluirse al daño por frío y al decaimiento.

El presente estudio evidenció también el efecto de la irradiación sobre la actividad de enzimas asociadas a la alteración. En el caso de la POD, en particular, la actividad disminuyó a medida que aumentaba la dosis de irradiación aplicada, un comportamiento diferente al que suele encontrarse en el caso de tratamientos térmicos, asociado a su conocida resistencia térmica de esta enzima (Neves & Lourenço, 1998). La inactivación de enzimas por irradiación podría estar asociada a un efecto directo sobre los enlaces puente de hidrógeno y electrostáticos, perturbando la estructura secundaria y terciaria, así como a un efecto indirecto vinculado a la generación de ROS, los cuales pueden interferir

en conjunto con la función biológica normal, si el sitio activo está comprometido (Latorre *et al.*, 2010). La inactivación de esta enzima contribuyó probablemente a prevenir el desarrollo de reacciones de pardeamiento en las muestras de durazno irradiadas.

La optimización realizada a través del cálculo y estimación de las variables de proceso capaces de producir los efectos deseados en el producto final constituye un importante aporte a nivel práctico, para la difusión comercial de esta tecnología. En este sentido, la función *desirability* ha sido utilizada previamente con éxito por otros autores para la optimización de procesos de desarrollo de alimentos, habiendo mostrado su capacidad para establecer satisfactoriamente las condiciones de procesamiento óptimas en procesos industriales, como la producción de films a partir de bananas, o para determinar las variables más adecuadas para un proceso de secado (Pelissari *et al.*, 2013; Rouissi *et al.*, 2013). Mediante el análisis predictivo, se consiguió en el presente capítulo extrapolar las mejores condiciones, estimándose que el tratamiento óptimo para la variedad evaluada (Granada) y en línea con los objetivos propuestos, sería la aplicación de irradiación gamma a una dosis de 0,25 kGy. La utilización de este tipo de estudio predictivo para la optimización de tratamiento resulta altamente promisoria para el trabajo en el desarrollo de procesos, y encuentra en la actualidad una mayor difusión en aplicaciones a nivel industrial.

4.3.4. Conclusiones

La irradiación gamma puede considerarse una tecnología prometedora para mejorar la calidad y prolongar la vida útil de duraznos mínimamente procesados, siempre que se aplique a dosis bajas y se combine con envases de baja permeabilidad al oxígeno. La exposición a dosis bajas de 0,1 y 0,3 kGy indujo la sobreexpresión de proteínas específicas en respuesta al estrés por irradiación. Además de su efecto protector, estas proteínas podrían utilizarse como biomarcadores para optimizar y seleccionar los tratamientos más adecuados. Actualmente, no existen informes de este efecto en tejidos vegetales; por tanto, se abren nuevas perspectivas sobre la aplicación de los tratamientos de irradiación en frutas y hortalizas enteras o mínimamente procesadas.

Se propone, en consecuencia, la realización de evaluaciones complementarias, que permitan utilizar la dosis de irradiación optimizada y la inclusión de un mayor número de cultivares de durazno para establecer la aptitud de cada una de estas variedades.

4.4.CAPÍTULO 3

Determinación de la aptitud varietal para el procesamiento de duraznos y su efecto sobre la calidad del producto final



4.4. Capítulo 3: Determinación de la aptitud varietal para el procesamiento de duraznos y su efecto sobre la calidad del producto final

4.4.1. Objetivos específicos

En la presente sección se utilizó la dosis óptima de irradiación gamma establecida en base a los resultados de los capítulos anteriores. Se evaluó el efecto de esta dosis sobre distintas propiedades físicoquímicas, sensoriales y físiológicas, en duraznos mínimamente procesados de diferentes variedades, con el fin de establecer también el efecto varietal ante la aplicación de este tipo de tecnología no térmica. Además, para poder establecer posibles patrones ocultos a partir de los datos obtenidos, se utilizaron métodos estadísticos multivariados, en particular algoritmos de aprendizaje no supervisado. Esta metodología brinda la posibilidad de predecir correlaciones, tendencias y patrones en los parámetros de calidad estudiados de las distintas variedades de durazno, evaluadas durante el almacenamiento refrigerado. En última instancia, se validaron los parámetros del proceso de irradiación establecidos como óptimos.

4.4.2. Resultados

A continuación, se muestran las imágenes correspondientes a las muestras de durazno de cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette no tratadas (control) e irradiadas a dosis de 0,2 kGy, al día 14 de almacenamiento, en las cuales no se evidencian diferencias ni cambios visuales macroscópicos entre muestras control y expuestas a irradiación (Fig. 52).

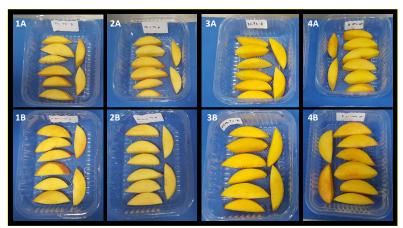


Fig. 52: Duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy), al día 0 de almacenamiento. *Referencias:*

cv. Flordaking: (1A) 0 kGy, (1B) 0,2 kGy; cv. Early Grand: (2A) 0 kGy, (2B) 0,2 kGy; cv. Dixiland: (3A) 0 kGy, (3B) 0,2 kGy; cv. Fayette: (4A) 0 kGy, (4B) 0,2 kGy.

Parámetros cromáticos

Los resultados del presente ensayo indican que el tratamiento de irradiación de 0,2 kGy no tuvo un efecto significativo sobre los parámetros cromáticos en duraznos mínimamente procesados de las diferentes variedades durante el almacenamiento refrigerado (4°C), (Tabla 20). En particular, el parámetro L* varió entre las muestras control de distintas variedades, producto de las diferencias en las características intrínsecas de cada una de ellas; por ejemplo, el valor de L* fue mayor al día inicial de almacenamiento (p < 0,05) en las muestras control de cv. Early Grand respecto a las muestras control de cv. Flor Daking. Asimismo, se observó un aumento estadísticamente significativo (p < 0,05) en L* durante el almacenamiento en las muestras control y tratadas de cv. Flordaking, en las muestras irradiadas de cv. Early Grand y en las muestras control de cv. Fayette. El resto de las muestras no sufrieron cambios significativos de este parámetro durante el almacenamiento.

Con respecto a C*, los resultados indican que no hubo diferencias significativas (p > 0,05) entre las muestras control e irradiadas de cv. Early Grand y Dixiland, mientras que C* resultó mayor en las muestras tratadas de cv. Flordaking y Fayette sólo al día inicial de almacenamiento, en coincidencia con los resultados del capítulo previo, en el cual la saturación del color se incrementó probablemente por el efecto de la aceleración inicial de la maduración durante el proceso de irradiación. Al igual que para el parámetro anterior, C* varió entre las muestras control de distintas variedades, producto de las diferencias existentes en las características intrínsecas de cada una de ellas, presentando los valores más altos las muestras de cv. Dixiland.

En cuanto al almacenamiento refrigerado, los resultados también mostraron coincidencias con ensayos anteriores, visualizándose una reducción del valor de C* en tres de las variedades estudiadas (cv. Early Grand, Dixiland y Fayette), conforme suceden los días a 4°C, exceptuando las muestras tratadas de cv. Early Grand, en conjunto con las muestras control y tratadas de cv. Flordaking, en las que se mantiene estable este parámetro durante la conservación.

En cuanto al parámetro h° , en general no hubo cambios significativos, exceptuando las muestras irradiadas a 0,2 kGy de cv. Early Grand, las cuales presentaron un valor más alto, respecto a las muestras sin tratar siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p < 0,05) a los 7 días de almacenamiento. En coincidencia con capítulos previos, este

valor mostró una tendencia a disminuir con el tiempo de conservación, en particular en las muestras control de cv. Dixiland y en las muestras tratadas de cv. Early Grand.

Tabla 20: Evaluación de parámetros cromáticos del sistema CIEL * C * h° determinados en duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

		ev.									
		Flordaking		Early Grand		Dixiland		Fayette			
Parámetros cromáticos	Tiempo (días)	Dosis (kGy)									
		0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,2		
	0	63,6 ^{cB}	65,8 ^{abcB}	67,3 ^{abA}	69,1 ^{aB}	65,7 ^{abcA}	64,3 ^{bcA}	64,6 ^{bcB}	66,9 ^{abcA}		
L *	7	69,1ªA	68,7 ^{aAB}	69,0 ^{aA}	70,4 ^{aAB}	64,4 ^{cA}	65,2 ^{bcA}	68,1 ^{abA}	67,5 ^{abcA}		
	14	70,5 ^{abA}	70,1 ^{bcA}	70,1 ^{bcA}	73,0 ^{aA}	64,2 ^{dA}	62,8 ^{dA}	68,3 ^{bcA}	67,3°A		
	0	39,3 ^{eA}	41,8 ^{dA}	41,4 ^{deA}	41,1 ^{deA}	53,4ªA	51,8ªA	45,6 ^{cA}	48,0 ^{bA}		
C *	7	42,5 ^{bcA}	40,7 ^{cdA}	41,0 ^{cdAB}	40,2 ^{dA}	50,2ªB	50,4 ^{aA}	43,4 ^{bB}	43,8 ^{bB}		
	14	40,7 ^{bcA}	39,9 ^{bcA}	39,3 ^{cB}	40,1 ^{bcA}	47,6 ^{aC}	47,0 ^{aB}	41,6 ^{bB}	41,0 ^{bcC}		
	0	85,2 ^{abA}	84,1 ^{abA}	84,6 ^{abA}	86,0 ^{aA}	83,0 ^{bcA}	81,6 ^{cA}	83,7 ^{abAB}	84,3 ^{abA}		
h°	7	84,1 ^{abA}	84,9 ^{abA}	83,2 ^{bcA}	86,1ªA	80,9 ^{dB}	81,4 ^{cdA}	82,0 ^{cdB}	83,1 ^{bcA}		
	14	83,8 ^{abA}	83,2 ^{bA}	82,6 ^{bcA}	83,0 ^{bB}	81,0 ^{cB}	81,1 ^{cA}	85,2ªA	84,4 ^{abA}		

Para cada parámetro cromático, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre la combinación variedad-tratamiento para cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación variedad-tratamiento (p < 0.05).

Firmez.a

En coincidencia con los capítulos anteriores, se corroboró que los tratamientos de irradiación provocan una reducción en la firmeza de los duraznos mínimamente procesados por efecto del ablandamiento de sus tejidos, independientemente de la variedad. Sin embargo, en el presente ensayo, este efecto se visualizó al cabo de 7 y 14 días de almacenamiento en tres de las variedades estudiadas (cv. Flordaking, Early Grand y Fayette), mientras que en la variedad Dixiland, si bien se observó una tendencia similar, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p > 0,05). De acuerdo con los resultados, la firmeza osciló para el día inicial entre 1,33 a 0,96 N (Fig. 53).

Por otra parte, analizando cada tratamiento individual, se evidencia una reducción significativa de la firmeza durante el tiempo propia del proceso de maduración de las frutas, exceptuando las muestras de cv. Dixiland, las cuales presentaron una estabilización de este parámetro durante el almacenamiento, aunque su firmeza inicial fue significativamente menor (p < 0.05) respecto al resto de las variedades.

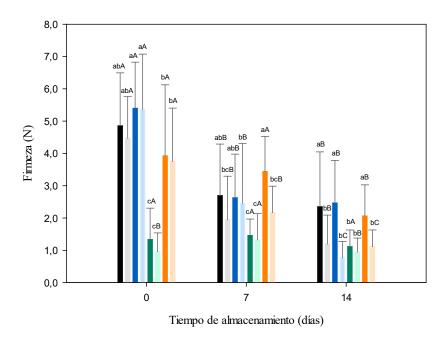


Fig. 53: Evaluación de firmeza determinada en duraznos mínimamente procesados a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C. *Referencias:* cv. Flordaking: (■) 0 kGy, (■) 0,2 kGy; cv. Early Grand: (■) 0 kGy, (■) 0,2 kGy; cv. Dixiland: (■) 0 kGy, (■) 0,2 kGy; cv. Fayette: (■) 0 kGy, (■) 0,2 kGy. Letras minúsculas diferentes representan diferencias entre la combinación variedad-tratamiento para

cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación variedad-tratamiento (p < 0.05).

Análisis sensorial

En la Tabla 21 se presentan los resultados de las evaluaciones del perfil sensorial realizadas para cada una de las muestras de las diferentes variedades control e irradiadas al día inicial de almacenamiento. Además, a modo representativo, el perfil sensorial para las muestras control e irradiadas de cv. Dixiland se visualizan en la Fig. 54.

Los datos evidencian que los cambios más pronunciados estuvieron dados para:

- Apariencia: Intensidad y homogeneidad de color; brillo
- Olor: Intensidad total; durazno; verde; sobremaduro
- Gusto: Amargo; dulce; ácido
- Flavor: Intensidad total; durazno; verde
- Textura bucal: Dureza; jugosidad; crujiente

Considerando los atributos de apariencia, los resultados indican que la percepción de la intensidad de color al día inicial fue diferente para cada variedad y, si se comparan muestras control y tratadas, la diferencia fue únicamente significativa para cv. Early Grand, siendo menor la percepción para las muestras irradiadas. Aunque cv. Flordaking tuvo un comportamiento similar, la tendencia en cv. Dixiland y Fayette fue inversa, conforme a lo que sucedió en los ensayos previos.

Por su parte, la percepción de la homogeneidad de color fue menor en las muestras irradiadas respecto a sus muestras control en cv. Dixiland (Fig. 54A), mientras esta propiedad fue percibida como mayor para cv. Early Grand. En cuanto al brillo y deshidratación, no se presentaron diferencias entre muestras control e irradiadas; sin embargo, entre las cuatro variedades ensayadas, las muestras cv. Dixiland y Fayette fueron las variedades percibidas con un mayor brillo por parte de los panelistas.

Respecto a los atributos de olor y *flavor*, la percepción de su intensidad total y del olor y *flavor* a durazno, fue menor en las muestras irradiadas de cv. Flordaking, mientras que se mantuvo constante para las muestras irradiadas de las otras variedades respecto a sus muestras control (Fig. 54 B y C). Sin embargo, en cv. Dixiland y cv. Fayette, la percepción de estos atributos por parte de los panelistas fue significativamente mayor con respecto a las otras variedades. Adicionalmente, las mismas variedades se percibieron como menos ácidas y amargas (p < 0,05) en comparación con cv. Flordaking y Early Grand.

Tabla 21: Perfil sensorial de duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy). Escala 0 – 10 puntos.

					c	v.					
Pr	Propiedad sensorial		laking	Early	Grand	land	Fayette				
	opicuau sciisoriai		Dosis (kGy)								
		0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,2		
IA	Intensidad de color	6,9°	6,2°	7,0°	5,0 ^d	9,2 ^{ab}	9,6ª	8,4 ^b	8,9ab		
APARIENCIA	Homogeneidad	5,0°	5,2°	3,6 ^d	5,5 ^{bc}	7,0ª	5,5 ^{bc}	6,6 ^{ab}	5,8 ^{abc}		
PARI	Brillo	0,1°	0,0°	0,0°	0,0°	1,6ª	1,6ª	0,9 ^b	1,2ªb		
A	Deshidratación	0,0ª	0,0ª	0,1ª	0,0ª	0,0ª	$0,0^{a}$	0,0ª	0,0ª		
	Intensidad total	5,3 ^{ab}	3,1 ^d	4,5 ^{bc}	4,1 ^{cd}	6,2ª	6,2ª	6,3ª	6,2ª		
OLOR	Durazno	3,3ª	1,7 ^b	3,2ª	1,8 ^b	3,4ª	4,0ª	3,8ª	3,6ª		
OF	Verde	0,3abc	0,9ª	0,8 ^{ab}	0,9ª	0,0°	0,1 ^{bc}	0,1 ^{bc}	0,0°		
	Sobremaduro	0,4 ^{cd}	0,0 ^d	$0,0^{d}$	$0,0^{d}$	0,5 ^{bcd}	0,9abc	1,7ª	1,3 ^{ab}		
0	Amargo	2,0ª	2,1ª	1,4 ^{ab}	2,2ª	0,5 ^b	0,6 ^b	0,7 ^b	0,6 ^b		
GUSTO	Dulce	1,0 ^{cd}	1,2 ^{cd}	0,8 ^d	0,7 ^d	2,6 ^{ab}	2,7ª	1,8 ^{abc}	1,8 ^{bc}		
5	Ácido	2,9 ^{ab}	2,7 ^{abc}	3,2 ^{ab}	3,6ª	1,5 ^d	1,5 ^d	2,1 ^{bcd}	1,7 ^{cd}		
	Intensidad total	5,7 ^{ab}	4,7°	4,6°	5,3 ^{bc}	6,4ª	6,3ª	6,5ª	6,3ª		
~	Durazno	3,2ª	2,1 ^{bc}	2,2abc	1,9°	3,2ª	3,2ª	2,6abc	3,1 ^{ab}		
FLAVOR	Verde	2,9ª	3,0ª	2,5ª	3,1ª	0,9°	1,0°	2,2ªb	1,2 ^{bc}		
FL	Astringente	0ª	0,1ª	0,1ª	0,3ª	0,0ª	0,4ª	0,2ª	0,5ª		
	Pasado/ Fermentado	$0,0^{a}$	0,0ª	$0,0^{a}$	0,0ª	$0,0^{a}$	0,1ª	0,4ª	0,2ª		
4	Dureza	2,7 ^{bc}	3,1 ^{abc}	3,5 ^{ab}	4,0ª	2,3°	2,2°	3,3 ^{abc}	3,2 ^{abc}		
TUR,	Jugosidad	3,2 ^{ab}	2,6ab	2,4 ^b	2,5 ^{ab}	3,2 ^{ab}	3,5ª	2,3 ^b	2,7 ^{ab}		
TEXTURA BUCAL	Crujiente	2,9 ^{ab}	2,7 ^{ab}	2,4 ^{ab}	3,4ª	1,7 ^{bc}	0,9°	2,5 ^{ab}	2,1 ^{bc}		
	Pastoso	0,1ª	0,3ª	0,4ª	0,1ª	0,3ª	0,4ª	0,1a	0,2ª		

Para cada descriptor sensorial, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre la combinación variedad-tratamiento al día inicial de almacenamiento a 4 $^{\circ}$ C, según test de Tukey (p < 0,05).

En cuanto al gusto dulce, el panel sensorial no encontró diferencias entre muestras control e irradiadas para ninguna de las variedades evaluadas (Fig. 54C). Sin embargo, las muestras de cv. Dixiland fueron las que presentaron un mayor dulzor, propio de la naturaleza varietal. Tanto el descriptor "flavor astringente" como el "pasado/fermentado"

no fueron percibidos por los panelistas en ninguno de los tratamientos y variedades ensayadas.

Por último, considerando los atributos de textura bucal, la dureza, la jugosidad y el atributo crujiente fueron percibidos con igual intensidad en las muestras irradiadas de todas las variedades respecto a sus muestras control, siendo solamente estadísticamente significativas las diferencias en el descriptor crujiente de las muestras cv. Dixiland irradiadas las que se percibieron como menos crujientes con respecto al control (Fig 54 D). Por su parte, el atributo pastoso no mostró diferencias (p > 0,05) entre los tratamientos y las variedades ensayadas.

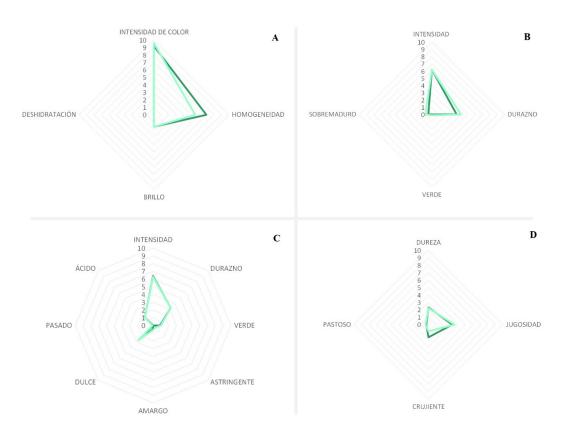


Fig. 54: Perfil sensorial en duraznos mínimamente procesados de cv. Dixiland a dosis de irradiación

(■) 0 kGy; (■) 0,2 kGy.

*Referencias: (A) Apariencia; (B) Olor; (C) Gustos básicos y flavor; (D) Textura bucal.

Escala 0 − 10 puntos.

Con la finalidad de analizar la riqueza varietal, la Figura 55 muestra el perfil sensorial sólo para las muestras irradiadas de cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette. Este análisis permite identificar un primer grupo, integrado por cv. Flordaking y Early Grand, y un segundo grupo, por cv. Dixiland y Fayette. En este último, la percepción de los panelistas de los descriptores intensidad de color, olor y *flavor* fue siempre mayor

respecto al primer grupo (Fig. 55 A, B y C). Adicionalmente, tanto las muestras de cv. Dixiland como Fayette fueron las que presentaron menores diferencias significativas en los atributos inducidas por el tratamiento de irradiación. Dentro de este mismo grupo, específicamente, las muestras irradiadas de cv. Dixiland presentaron mayor intensidad de color y brillo, olor a durazno, gusto dulce y jugosidad, destacándose que estos aspectos contribuyen a mejorar la apariencia y *flavor* del producto y seguramente serán valorados por el consumidor (Fig. 55 A, B, C y D).

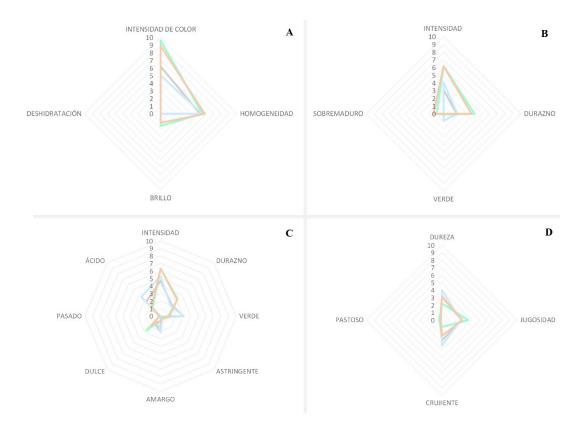


Fig. 55: Perfil sensorial en duraznos mínimamente procesados ev. Flordaking (■), Early Grand (■), Dixiland (■) y Fayette (■) a dosis de irradiación (0,2 kGy).

*Referencias: (A) Apariencia; (B) Olor; (C) Gustos básicos y *flavor; (D) Textura bucal.

*Escala 0 − 10 puntos.

Ácidos orgánicos

Con la finalidad de complementar los ensayos fisicoquímicos, en la presente sección se determinó el contenido de los ácidos orgánicos mayoritarios presentes en duraznos, siendo los más importantes el ácido málico y el ácido cítrico. Si bien el ácido ascórbico no representa un ácido mayoritario, también se realizó su determinación, dado su incorporación durante el procesado mínimo y su gran importancia nutricional como vitamina C.

La Tabla 22 resume las concentraciones de ácido málico, ácido cítrico y ácido ascórbico en duraznos mínimamente procesados de las variedades estudiadas, para las muestras control y las sometidas al tratamiento de irradiación (dosis 0,2 kGy) y almacenadas durante 14 días. Es de importancia recordar que, durante el procesamiento mínimo, se impregnaron las rodajas de durazno con una solución acuosa antioxidante conteniendo 1% de ácido ascórbico y 0,5% de ácido cítrico (2 min), para prevenir el pardeamiento superficial (*ver sección 3.1.2.*), lo cual pudo haber afectado las concentraciones determinadas.

De manera general, los resultados indican que el contenido de ácidos orgánicos se redujo levemente a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, probablemente debido a que las frutas utilizan estos ácidos como sustratos respiratorios durante la maduración y, además, estos pueden ser convertidos en azúcares mediante distintas vías metabólicas. Sin embargo, en el caso del ácido málico, este efecto sólo se pudo visualizar en las muestras control de cv. Flordaking y Fayette. Contrariamente, su concentración se mantuvo estable para las muestras control de cv. Early Grand y Dixiland, así como para las muestras irradiadas de las cuatro variedades ensayadas durante el período de conservación, siendo en la mayoría de los casos los valores más altos en estas últimas. En este sentido, se destaca en la variedad Early Grand que, para todos los días de almacenamiento, las muestras irradiadas tuvieron mayor contenido (p < 0,05) de ácido málico que las muestras control. Algo similar ocurrió con cv. Flordaking, pero solamente para los días 7 y 14 y en cv. Fayette al día 14.

Considerando el contenido de ácido cítrico, este no sufrió modificaciones atribuibles al tratamiento de irradiación; no obstante, hay un efecto debido al almacenamiento, durante el cual las muestras control de cv. Flordaking y Early Grand manifestaron un aumento significativo de su contenido al día 7 y una reducción significativa al día 14 de almacenamiento, mientras que en las muestras irradiadas de cv. Dixiland sólo hubo una reducción significativa al día 14. Para el resto de los tratamientos y variedades, el contenido de ácido cítrico se mantuvo estable.

Por su parte, el contenido de ácido ascórbico se mantuvo estable frente al tratamiento de irradiación y durante el almacenamiento refrigerado en todas las variedades. Sin embargo, se puede identificar que el nivel inicial de este ácido fue menor para las muestras de cv.

Dixiland y Fayette respecto a cv. Flordaking y Early Grand, producto probablemente del efecto varietal.

Tabla 22: Contenido de ácidos orgánicos en duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

		ev.									
Ácidos orgánicos	Tiempo	Flordaking		Early	Early Grand		Dixiland		Fayette		
(mg/100 g	(días)	Dosis (kGy)									
fruta)		0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,2		
	0	62,2 ^{bA}	111,5 ^{abA}	64,5 ^{bA}	158,9 ^{aA}	120,4 ^{abA}	109,0 ^{abA}	156,2ªA	121,4 ^{abA}		
Ácido málico	7	71,1 ^{bA}	104,0ªA	54,2 ^{bA}	115,7ªA	110,9 ^{aA}	110,9ªA	114,8ªAB	119,3ªA		
	14	35,7 ^{bB}	102,7ªA	43,7 ^{bA}	95,2ªA	110,8ªA	96,8ªA	56,0 ^{bB}	113,1ªA		
	0	224,1 ^{aB}	351,9 ^{aA}	190,8ªB	358,7 ^{aA}	363,9 ^{aA}	388,1 ^{aA}	298,3ªA	289,5 ^{aA}		
Ácido cítrico	7	282,0 ^{aA}	347,5 ^{aA}	259,9 ^{aA}	329,8 ^{aA}	339,9 ^{aA}	291,1 ^{aAB}	236,6ªA	257,8ªA		
	14	238,1ªB	327,1ªA	136,0 ^{aB}	192,1ªA	314,6 ^{aA}	231,8 ^{aB}	256,8ªA	258,2ªA		
	0	2,7ªA	2,4ªA	2,6ªA	2,3ªA	0,7 ^{bA}	0,6 ^{bA}	0,5 ^{bA}	0,4 ^{bA}		
Ácido ascórbico	7	2,8ªA	2,6ªA	2,3ªA	2,0 ^{aA}	0,6 ^{bA}	0,6 ^{bA}	0,6 ^{bA}	0,4 ^{bA}		
	14	2,3ªA	2,4ªA	2,5ªA	2,2ªA	0,4 ^{bA}	0,4 ^{bA}	0,4 ^{bA}	0,4 ^{bA}		

Para cada ácido orgánico, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre la combinación variedad-tratamiento para cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación variedad-tratamiento (p < 0.05).

Azúcares

A continuación, se muestra en la Tabla 23 el contenido de azúcares presentes en las muestras de duraznos mínimamente procesados control y sometidas al tratamiento de irradiación (dosis 0,2 kGy) y almacenadas durante 14 días. Los resultados indican que el

contenido de sacarosa no se modificó por el tratamiento de irradiación en ninguna de las variedades estudiadas. Sin embargo, en la mayoría de las muestras se observó una reducción en este disacárido durante el almacenamiento, probablemente debido a los procesos hidrolíticos asociados a la maduración de las frutas, en los cuales los polisacáridos se transforman en azúcares solubles. Esto se puede reflejar en el aumento del contenido de glucosa y fructosa determinados en el presente ensayo, siendo este efecto más notorio en las muestras de cv. Flordaking y Early Grand al día 14 de almacenamiento.

Tabla 23: Contenido de azúcares en duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy) durante 0, 7 y 14 días de almacenamiento a 4 °C.

		ev.									
Azúcares	Tiempo	Flordaking		Early Grand		Dixiland		Fayette			
(g/100 g fruta)	(días)	Dosis (kGy)									
		0	0,2	0	0,2	0	0,2	0	0,2		
	0	5,7 ^{abA}	5,0 ^{abA}	3,3 ^{bA}	4,2 ^{abA}	7,1 ^{aA}	5,6 ^{abA}	2,9 ^{bA}	2,9 ^{bA}		
Sacarosa	7	5,0 ^{aA}	4,9 ^{aA}	4,1ªA	3,4abAB	5,6ªAB	4,7 ^{aB}	2,7 ^{bA}	2,6 ^{bA}		
	14	3,1 ^{abB}	4,4 ^{aB}	3,2 ^{abA}	2,9 ^{bB}	4,4 ^{aB}	4,7 ^{aB}	2,7 ^{bA}	2,4 ^{bA}		
	0	0,7 ^{bB}	0,7 ^{bB}	0,6 ^{bB}	0,7 ^{bB}	1,3 ^{aA}	1,4 ^{aA}	1,1 ^{abA}	1,1 ^{abA}		
Glucosa	7	$0,7^{\mathrm{bB}}$	0,8 ^{bB}	0,7 ^{bB}	0,7 ^{bB}	1,4 ^{aA}	1,4 ^{aA}	1,1 ^{abA}	1,1 ^{abA}		
	14	0.9^{bA}	1,1 ^{abA}	0,9 ^{bA}	0,9 ^{bA}	1,4 ^{aA}	1,4 ^{aA}	1,1 ^{abA}	$1,1^{\mathrm{abA}}$		
	0	0,5 ^{bB}	0,8 ^{abA}	0,8 ^{abB}	0,8 ^{abB}	1,4 ^{aA}	1,3 ^{aA}	$0,9^{\mathrm{abB}}$	1,2ªA		
Fructosa	7	0,9 ^{bA}	0,9 ^{bA}	0,9 ^{bB}	0,9 ^{bB}	1,3ªA	1,4 ^{aA}	1,1 ^{abA}	1,3ªA		
	14	1,0ªA	0,9ªA	1,1ªA	1,1ªA	1,5ªA	1,5ªA	1,3ªA	1,3ªA		

Para cada azúcar, letras minúsculas diferentes en cada fila representan diferencias entre la combinación variedadtratamiento para cada tiempo de evaluación, según test de Tukey (p < 0.05) y letras mayúsculas diferentes en cada columna representan diferencias debidas al almacenamiento para cada combinación variedad-tratamiento (p < 0.05). Respecto a las muestras tratadas y, continuando la tendencia descripta anteriormente, las concentraciones de glucosa y fructosa no se afectaron por el tratamiento de irradiación en ninguna de las variedades estudiadas. No obstante, se evidencia que el contenido de dichos azúcares fue generalmente más alto en cv. Dixiland, lo cual resulta coincidente con la mayor intensidad del gusto dulce referido en la evaluación sensorial de esta variedad en particular.

Correlaciones multivariadas

En base a los resultados hasta aquí descriptos y debido al gran volumen de datos generados, se hace imprescindible establecer un método que permita analizar de forma simultánea las variables disponibles, tanto instrumentales como sensoriales, mediante alguna metodología de entrenamiento de sistemas, con el fin de encontrar patrones y tendencias en los tratamientos ensayados. Este análisis resultará sumamente valioso para caracterizar la aptitud varietal en virtud del procesamiento y tecnología aplicados.

Para esto, en el presente análisis, se utilizó el método estadístico de regresión de mínimos cuadrados parciales o PLS regression. PLS es un modelo de datos multivariantes, el cual presenta una gran versatilidad para el análisis de múltiples relaciones entre uno o más conjuntos de variables medidas en diferentes objetos. La idea básica es la reducción de las dimensiones mediante la aplicación de una regresión múltiple, con el objeto de que las primeras componentes ortogonales mejoren y faciliten la predicción. PLS es un método estadístico que guarda estrecha relación con la regresión de componentes principales (PCA), en la cual los algoritmos permiten establecer una regresión lineal mediante la proyección de las variables de predicción y las variables observables a un nuevo espacio. La finalidad es encontrar hiperplanos de máxima varianza entre la variable respuesta y las variables independientes, de forma de ajustar los datos a múltiples variables de respuesta en un solo modelo.

Por lo tanto, el objetivo de la aplicación de esta metodología fue investigar la correlación entre las determinaciones instrumentales y los atributos sensoriales percibidos de los duraznos mínimamente procesados, control e irradiados a 0,2 kGy, para las distintas variedades (Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette) al día inicial de almacenamiento.

En primer lugar, se establecieron como variables dependientes o de respuesta (X) a las variables instrumentales (parámetros cromáticos y de firmeza, contenido de ácidos orgánicos y azúcares) y como variables independientes o predictoras (Y) a las variables sensoriales (descriptores de apariencia, olor, gusto, *flavor* y textura), de forma tal de que estas últimas sean las explicativas del modelo. Luego se normalizaron los datos para que se trabaje en una escala de magnitud similar.

A continuación, se determinó la cantidad de componentes principales al azar (4 componentes) y se aplicaron los algoritmos del modelo PLS utilizando el software XLSTAT (Addinsoft, Paris, Francia), con el módulo incorporado XLSTAT Sensory, empleando un intervalo de confianza del 95%. De esta forma, el programa calculó los vectores asociados al espacio X e Y para cada componente, de modo de que la covarianza se maximice entre las proyecciones.

Como se conocen los valores observados para todas las variables y_k , luego, por validación cruzada, se pueden obtener estimaciones menos sesgadas de las mismas a través del PLS (en el que no han participado de forma activa en el modelo generado para su estimación) y, por tanto, también se puede conocer la desviación entre el valor observado y el estimado. Se denomina PRESS y_k a la suma de cuadrados de los errores de la predicción para la variable y_k (desviación al cuadrado entre el valor observado y el estimado), es decir (Ecuación 11):

$$PRESS_{y_k} = \sum_{i=1}^{n} (y_{ik} - y_{ik(-i)}^*)^2$$
 Ecuación (11)

donde $y^*_{ik(-i)}$ es el valor previsto de la variable y_k para la observación i sin que esta haya participado en el modelo. Al realizar la sumatoria para todas las variables y_k , se genera la siguiente fórmula (Ecuación 12), suponiendo h componentes en el modelo:

$$PRESS_{(h)} = \sum_{k=1}^{q} \sum_{i=1}^{n} (y_{ik} - y_{ik(-i)}^{*})^{2}$$
 Ecuación (12)

No obstante, por el principio de parsimonia y reducción de los riesgos de sobreajuste a la muestra (más conocido como *overfitting*), se debería buscar aquel modelo que contenga el menor número posible de componentes y que no difiera demasiado del valor mínimo

PRESS; en terminología estadística, sería aquel que no fuera significativamente diferente al mínimo. En base a los valores del estadístico PRESS obtenidos, existen varios métodos que ayudan a decidir el número de componentes a retener. Uno de estos métodos es a través del cálculo de índice Q^2 y Q^2 acumulado de Stone Geiser. Para cada nueva componente h y para cada variable y_k se calcula el índice (Ecuación 13):

$$Q_{y_kh}^2 = 1 - \frac{PRESS_{y_k(h)}}{RSS_{y_k(h-1)}}$$
 Ecuación (13)

donde $\operatorname{RSS}_{y_k(h-1)} = \sum_{i=1}^n (y_{ik} - y_{ik(h-1)}^*)^2$ representa la suma de cuadrados de los errores (residuales) calculados con el modelo con (h-1) primeras componentes. Este índice representa la fracción de la variación total de y_k que puede predecirse mediante la componente h, es decir, el aporte marginal de cada componente h al poder predictivo del modelo para la variable y_k . Globalmente, sobre el conjunto de variables Y, se calcula (Ecuación 14):

$$Q_h^2 = 1 - \frac{\sum_{k=1}^q \text{PRESS}_{y_k(h)}}{\sum_{k=1}^q \text{RSS}_{y_k(h-1)}}$$
 Ecuación (14)

Por lo tanto, este índice mide el aporte marginal de cada componente h al poder predictivo del modelo (del conjunto de variables $y_1, y_2,..., y_q$). Se puede medir el aporte global del conjunto de las h primeras componentes PLS con los siguientes índices (Ecuaciones 15 y 16):

$$(Q_{cum}^2)_{y_k h} = 1 - \prod_{z=1}^h \frac{\text{PRESS}_{y_k z}}{\text{RSS}_{y_k (z-1)}} \quad \text{(indice para la variable } y_k \ k = 1, 2, \dots, q\text{)}.$$
 Ecuación (15)

$$(Q_{cum}^2)_h = 1 - \prod_{z=1}^h \frac{\sum_{k=1}^q \text{PRESS}_{y_k(z)}}{\sum_{k=1}^q \text{RSS}_{y_k(z-1)}}$$
 Ecuación (16)

En el presente análisis, se realizó la validación cruzada, para detectar la predicción del modelo y asegurarse de que no haya *overfitting*. En esta etapa, se calcularon los valores "R² acumulado", tanto en el espacio X como Y, el cual estima la calidad del ajuste, aumentando su valor a medida que se agregan más variables y, por tanto, componentes al

modelo. Por otra parte, también se calculó "Q² acumulado" el cual, como se mencionó anteriormente, estima la calidad de la predicción, aumentando su valor a medida que se agregan más componentes hasta un punto máximo en el que nuevas variables no mejoran la predicción del modelo y, por lo tanto, Q² disminuye (Fig. 56A). De esta forma, esta metodología permitió determinar la cantidad de componentes que aportarían mayor significancia al modelo entrenado. Se estimaron 2 componentes, con la finalidad de continuar iterando el algoritmo (Fig. 56B).

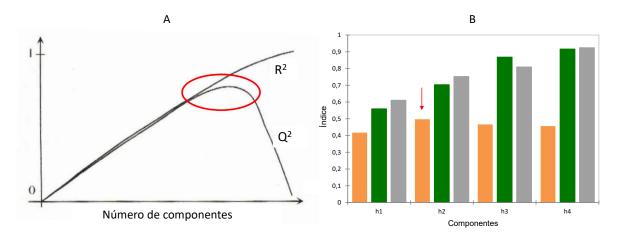


Fig. 56: (A) Validación teórica del modelo PLS a través de los parámetros R² acumulado (calidad del ajuste) y Q² acumulado (calidad de predicción). El círculo de color rojo representa la zona en donde el parámetro Q² es máximo, determinando el número de componentes óptima que aportan mayor significancia. (B) Validación práctica del modelo PLS, identificando Q² acumulado (■), R²Y acumulado (■) y R²X acumulado (■), a través de las 4 componentes estudiadas. El gráfico demuestra que el valor óptimo de Q² se encuentra en la h2 (flecha color roja), y luego comienza a decrecer, por lo tanto, se definieron 2 componentes para iterar el algoritmo.

Para explorar la influencia de cada variable predictora en el análisis, se considera que, en general, si los coeficientes de regresión tienen un valor absoluto pequeño, los mismos tendrán una contribución también pequeña al modelo. Otro parámetro estadístico importante para considerar es la variable de importancia en la proyección o "VIP". Mientras que el coeficiente de regresión representa la importancia que cada variable explicativa tiene en la predicción de las variables respuesta, VIP representa el valor de cada variable explicativa en el ajuste del modelo. Atributos cuyos valores VIP sean menores a 0,8, se descartan, dado que no aportarán una contribución importante al modelo. En el presente estudio, ninguna variable presentó VIP menor a 0,8, por lo no se descartó ninguna de ellas para la siguiente iteración (Fig. 57).

Por otra parte, como parte del mismo análisis, se pudo visualizar al explorar todas las variables respuesta (X), que sólo para el caso del ácido málico, los coeficientes

estandarizados que miden el peso relativo de la variable X en la predicción de cada variable Y no son significativos en relación a las variables sensoriales predictoras (Y) (Fig. 58), por lo que se procedió a descartar dicha variable para la siguiente iteración.

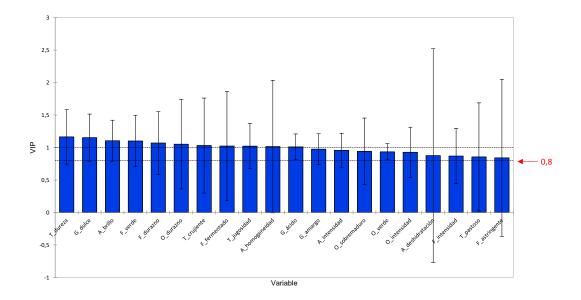


Fig. 57: Representación gráfica de la variable de importancia en la proyección o "VIP", según cada variable explicativa del modelo. Todas las variables presentaron VIP > 0,8, por lo que no se descarta ninguna para la siguiente iteración. *Referencias:* Cada variable está precedida de su inicial correspondiente, según si se trata de descriptores de apariencia (A), de olor (O), de gusto básico (G), de *flavor* (F) o de textura (T).

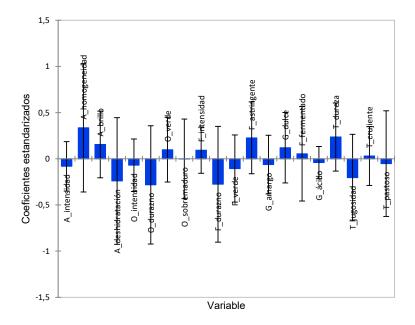


Fig. 58: Coeficientes estandarizados del análisis del contenido de ácido málico con relación a las variables sensoriales predictoras. Los parámetros cuyos intervalos de confianza del 95% no cruzan la línea del cero son estadísticamente significativos. En la presente figura, todos los parámetros cruzan la línea del cero, por lo que no existe correlación, y por tanto se descartó ácido málico para la siguiente iteración.

De esta forma, se iteró el modelo PLS teniendo en cuenta 2 componentes principales, los cuales explican el 55,93% (h1) y 14,42% (h2) de la varianza, representando un porcentaje total de explicación del 70,35%. De este modo, la Figura 59 evidencia las correlaciones entre variables sensoriales e instrumentales según los datos obtenidos en el presente capítulo.

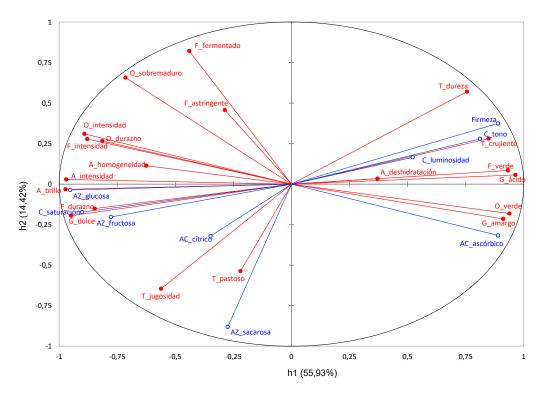


Fig. 59: Gráfico biplot de correlaciones entre variables instrumentales y sensoriales según la predicción en el espacio respuesta, teniendo en cuenta los vectores de las 2 componentes, h1 y h2. *Referencias:* Variables instrumentales (o), variables sensoriales (o). Cada variable está precedida de su inicial correspondiente, según si se trata de parámetros cromáticos (C), ácidos orgánicos (AC) y azúcares (AZ), o descriptores de apariencia (A), olor (O), gusto básico (G), *flavor* (F) y textura (T).

Este análisis demuestra que existen correlaciones tanto positivas como negativas entre las variables, y permite estimar la magnitud de su relación en función del *ángulo* y *módulo* de los vectores con respecto a los ejes de las componentes principales (h1 y h2). A continuación, se explica la forma en que estos resultados deben ser interpretados:

-Ángulo: cuanto más paralelo es un vector al eje de una componente, significa que más ha contribuido a la creación de la misma. Con esto se obtiene información sobre qué variables han sido más determinantes para calcular cada componente, y permite establecer si entre las variables existe correlación. En el presente análisis, se observa que gran parte de las variables se concentraron de forma casi paralela a h1; esto significa que la componente 1 fue la que mayor contribución aportó al modelo. Además, los ángulos

agudos entre vectores indican una alta correlación entre las variables implicadas, los ángulos rectos representan una falta de correlación, y los ángulos obtusos indican una correlación negativa. Por tanto, las variables positivamente correlacionadas se agrupan juntas o próximas, mientras que las negativamente correlacionadas aparecerán en lados opuestos con respecto al origen, o sea en cuadrantes opuestos.

La Tabla 24 resume las principales correlaciones encontradas en el presente análisis.

Tabla 24: Principales correlaciones positivas, nulas y negativas entre las variables instrumentales y sensoriales según la predicción del modelo.

Tipo de correlación	Ejemplos
	Intensidad olor/ intensidad durazno/ intensidad flavor
Do sitions	Flavor durazno / saturación de color (C*) / gusto dulce / fructosa
Positiva	Firmeza / tono de color (hº) / textura crujiente / luminosidad (L*)
	Apariencia deshidratación/ flavor verde/ gusto ácido
Nulo	Sacarosa/ ácido ascórbico
Nula	Jugosidad/ flavor fermentado
	Jugosidad/ dureza
Negativa	Olor verde/ olor durazno
	Flavor verde/ flavor durazno

- Módulo: cuanto mayor es la longitud de un vector relacionado con alguna variable, un mayor porcentaje de variabilidad de dicha variable estará contenida en la representación de las dos componentes del biplot, es decir, estará mejor representada su información en el gráfico. Por tanto, la calidad de la representación de las variables aumentará, a medida que la distancia entre las variables y el origen esté más próxima a la circunferencia o círculo de correlación. En el presente análisis, se observa que gran parte de las variables se encuentran próximas al círculo de correlación, exceptuando las siguientes: *flavor* astringente, homogeneidad de apariencia, ácido cítrico, textura pastosa, deshidratación y luminosidad. Dichas variables, posicionadas más cerca del origen, no significaron un aporte importante a la calidad del modelo tal cual está definido, o bien necesitarían de la inclusión de más componentes para aumentar su representación.

Para poder interpretar con un mayor grado de detalle la relación entre distintas variables instrumentales y sensoriales, se representan a continuación los coeficientes estandarizados de aquellas variables de mayor interés y que presentaron mejor calidad de ajuste en el modelo (Fig. 60).

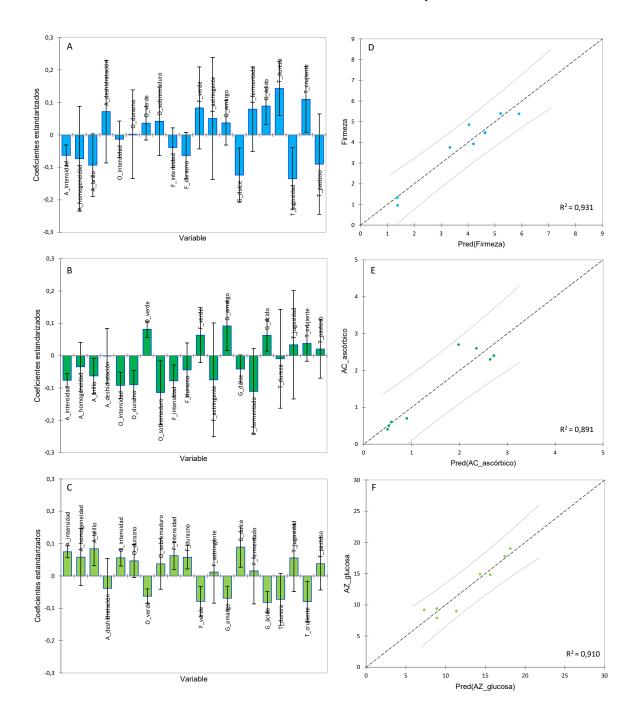


Fig. 60: Coeficientes estandarizados del análisis de firmeza (A, ■), ácido ascórbico (B, ■) y glucosa (C, ■) en relación a las variables sensoriales predictoras. Los parámetros cuyos intervalos de confianza del 95% no cruzan la línea del cero son estadísticamente significativos.
La calidad del ajuste también se muestra en el gráfico sobre los datos observados frente a los predichos, para el análisis de firmeza (D, ■), ácido ascórbico (E, ■) y glucosa (F, ■).

En primer lugar, se demostró que la firmeza, medida instrumentalmente, está correlacionada positivamente con el gusto ácido, la dureza y la textura crujiente percibidas, mientras que, en cambio, se encuentra correlacionada negativamente con la intensidad de apariencia, el gusto dulce y la jugosidad (Fig. 60A).

En segundo lugar, el contenido de ácido ascórbico está correlacionado positivamente con el olor a verde y el gusto amargo y ácido, mientras que se encuentra correlacionado negativamente con la intensidad de apariencia, el brillo, la intensidad de olor, y el olor a durazno y sobremaduro (Fig. 60B).

Por último, el contenido de glucosa está correlacionado positivamente con la intensidad de apariencia, el brillo, la intensidad de olor, la intensidad de *flavor*, el *flavor* a durazno y el gusto dulce, mientras que se encuentra correlacionado negativamente con el olor a verde, el *flavor* a verde, el gusto amargo y ácido y la textura crujiente percibidas (Fig. 60C). La calidad del ajuste del modelo para cada variable está calculada a partir de los datos observados frente a los predichos (Fig. 60 D, E y F).

Finalmente, la Figura 61 muestra el gráfico biplot, el cual permitió ubicar a los distintos tratamientos de las variedades estudiadas en función de las componentes definidas en el análisis PLS. Cabe destacar que las muestras tanto control como irradiadas de cada variedad se ubicaron en un cuadrante diferente en el gráfico.

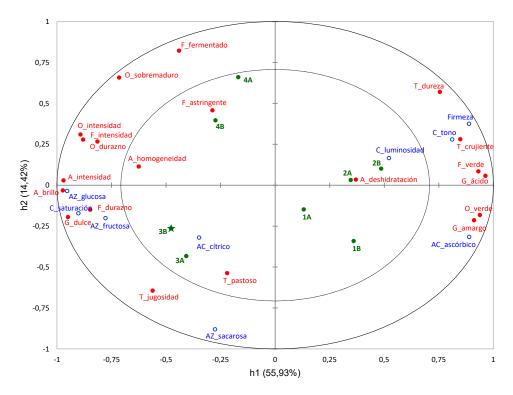


Fig. 61: Gráfico biplot de correlaciones entre variables instrumentales y sensoriales según la predicción en el espacio respuesta, teniendo en cuenta los vectores de las 2 componentes, h1 y h2. *Referencias:*Variables instrumentales (○), variables sensoriales (●), muestras de duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy), (●). cv. Flordaking: (1A) 0 kGy, (1B) 0,2 kGy; cv. Early Grand: (2A) 0 kGy, (2B) 0,2 kGy; cv. Dixiland: (3A) 0 kGy, (3B) 0,2 kGy (seleccionada como variedad y tratamiento óptimos, representada en el gráfico con una ★); cv. Fayette: (4A) 0 kGy, (4B) 0,2 kGy.

Los resultados muestran que la primer componente (h1) explicó el mayor porcentaje de la varianza del modelo (55,93%), indicando que los tratamientos en el lado derecho del biplot (cv. Flordaking y Early Grand) presentarían mayores valores de firmeza, tono de color y contenido de ácido ascórbico, en conjunto con la percepción sensorial de mayor dureza, crujiente, olor y *flavor* a verde, y gusto ácido y amargo, atributos que caracterizan a frutas en un estadio inmaduro. Por su parte, los tratamientos en el lado izquierdo del biplot (cv. Dixiland y Fayette) presentarían características típicas de frutas maduras con atributos seguramente apreciados por el consumidor, como por ejemplo, jugosidad, *flavor* y olor a durazno, gusto dulce, homogeneidad de apariencia, entre otros.

En cuanto a la segunda componente (h2), aunque la misma sólo explica el 14,42% de la varianza del modelo, se resalta que los tratamientos en el cuadrante de arriba (cv. Fayette) exhibirían una mayor tendencia a presentar atributos como olor a sobremaduro, intensidad de *flavor* y *flavor* fermentado, que corresponden a frutas en un estadio maduro avanzado. No obstante, los tratamientos en el cuadrante de abajo (cv. Dixiland) presentarían una menor tendencia a asociarse con atributos como *flavor* verde y gusto ácido, y menores valores de firmeza, y dureza y crujiente percibidas en la evaluación sensorial, así como también una mayor saturación de color, y contenido de azúcares y ácido ascórbico. Esta componente también se asociaría, al inicio del almacenamiento, con una mayor intensidad percibida de los atributos sensoriales: dulce, brillo, *flavor* a durazno y jugosidad.

Teniendo en cuenta lo analizado hasta aquí, el estudio permite inferir que los tratamientos óptimos serían aquellos ubicados en el cuadrante inferior del biplot, dado que en el mismo se condensaron las características asociadas con una mejor calidad del producto. Además, se destaca que los vectores calculados para los tratamientos de cv. Dixiland fueron los que presentaron un mayor módulo respecto a las demás variedades. Dentro de estos, las muestras irradiadas de cv. Dixiland (3B) presentaron una mayor proximidad al eje h1 y una mayor correlación positiva con la saturación de color, el contenido de glucosa y fructosa, y percepción dulce, brillo y *flavor* a durazno.

En conclusión, el análisis por PLS sugiere que el tratamiento óptimo estaría determinado por la aplicación de dosis de irradiación a 0,2 kGy en duraznos mínimamente procesados de cv. Dixiland (representado con una estrella en la Figura 61). Esta información concuerda con los análisis previos realizados mediante estudios de significancia estadística, así como con las ecuaciones de regresión obtenidas para cada variable.

Proteínas de estrés (HSP)

La Figura 62A muestra el análisis SDS-PAGE de extractos proteicos de duraznos mínimamente procesados de cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette control y tratados a 0,2 kGy, evaluados al día inicial de almacenamiento.

Al igual que en el capítulo anterior, esta técnica permitió detectar un grupo de proteínas inducidas por la irradiación, cuyo peso molecular oscila entre 25 y 48 kDa, lo que es compatible con las características de la familia de sHSP. Su localización en una región del gel con baja densidad de proteínas hizo factible la complementación por densitometría para agregar un aspecto cuantitativo. A partir de este análisis, se estimaron las cantidades relativas de proteína inducidas por cada tratamiento, lo que reveló un aumento en la intensidad de 6 bandas específicas (identificadas del "1 al 6") correspondientes a proteínas entre 25 y 48 kDa, particularmente en las muestras irradiadas de cv. Early Grand, Dixiland y Fayette (Fig. 62B). Tanto las muestras control como irradiadas de cv. Flordaking no presentaron inducción de este tipo de proteínas.

Asimismo, como se muestra en el análisis de inmunotransferencia (*Western blot*), se observaron las bandas específicas correspondientes a sHSP en la región de peso molecular comprendida entre 25 y 48 kDa (identificadas del "1 al 6", siguiendo el mismo orden de numeración anterior), y 1 banda específica correspondiente a la familia de HSP70 en la región de peso molecular aproximadamente a 75 kDa (identificada como "1"), (Fig. 63A).

En el primer caso, los resultados muestran un bajo nivel basal de sHSP en las muestras sin irradiar, mientras que este nivel aumentó en los duraznos expuestos a dosis de 0,2 kGy, en particular las sHSP "1" y "2" (peso molecular ~25-35 kDa) para las muestras irradiadas de cv. Early Grand, Dixiland y Fayette, en un 8, 9 y 11%, respectivamente, para sHSP "1" y 10, 9 y 14%, respectivamente, para sHSP "2" (Fig. 63B). Esta misma tendencia se observó para las sHSP "3", "4", "5" y "6" (peso molecular ~35-48 kDa), sobre todo en las muestras irradiadas de la cv. Fayette, entre un 6 y 11%, mientras que el aumento en las muestras irradiadas de cv. Dixiland y Fayette constituyó entre 1 y 3%, respecto a sus muestras control. En la variedad Flordaking no se observó un aumento de sHSP debido a la irradiación.

En relación con la familia HSP70, se detectó la sobreexpresión de HSP70 "1" únicamente en las muestras irradiadas de cv. Dixiland y Fayette. Al igual que en la figura anterior,

tanto las muestras control como irradiadas de cv. Flordaking, no presentaron inducción de este tipo de proteínas.

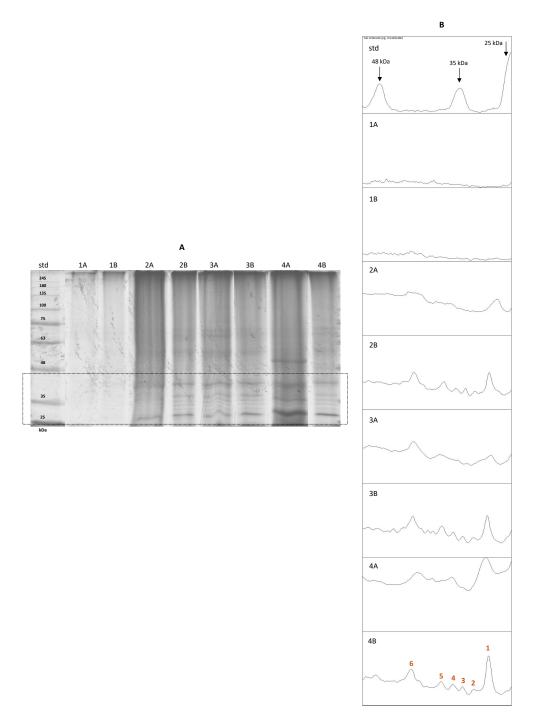
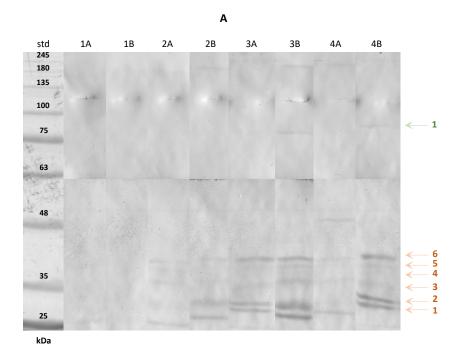


Fig. 62: Detección de la sobreexpresión de proteínas de estrés térmico (HSP) de duraznos mínimamente procesados ev. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy). (A) SDS/PAGE de extractos de proteínas; (B) Análisis densitométrico de la región de bajo peso molecular del gel, (indicada por una línea de puntos en la Fig. 62A). *Referencias:* ev. Flordaking: (1A) 0 kGy, (1B) 0,2 kGy; ev. Early Grand: (2A) 0 kGy, (2B) 0,2 kGy; ev. Dixiland: (3A) 0 kGy, (3B) 0,2 kGy; ev. Fayette: (4A) 0 kGy, (4B) 0,2 kGy.



В

	Valores (bits x píxel)						
Muestra	sHSP						HSP70
	1	2	3	4	5	6	1
1A	209,7	209,3	209,3	210,4	209,1	206,0	202,9
1B	214,4	212,8	213,2	213,1	211,7	210,2	208,1
2A	210,8	212,7	208,8	210,4	209,6	209,4	208,4
2B	194,9	192,2	204,3	205,8	206,0	205,2	208,3
3A	193,0	189,9	198,0	202,0	198,2	189,4	210,4
3B	174,9	173,6	192,9	200,2	198,7	192,4	204,3
4A	201,1	207,9	209,2	213,5	211,5	209,2	208,4
4B	179,3	179,2	197,3	200,3	198,0	187,4	203,1
Referencia:							
	0	Escala de grises (bits x píxel) 254			254		

Fig. 63: (A) Análisis de inmunotransferencia de extractos proteicos de duraznos mínimamente procesados cv. Flordaking, Early Grand, Dixiland y Fayette a dosis de irradiación (0; 0,2 kGy). Detección de 6 bandas correspondientes a proteínas de estrés térmico de bajo peso molecular (sHSP) entre 25 y 40 kDa y 1 banda correspondiente a HSP70 a 75 kDa; (B) Análisis densitométrico de las sHSP y HSP70 determinadas en la inmunotransferencia. Referencias: cv. Flordaking: (1A) 0 kGy, (1B) 0,2 kGy; cv. Early Grand: (2A) 0 kGy, (2B) 0,2 kGy; cv. Dixiland: (3A) 0 kGy, (3B) 0,2 kGy; cv. Fayette: (4A) 0 kGy, (4B) 0,2 kGy.

Validación

Los resultados obtenidos en el ensayo de validación del modelo del presente capítulo, incluyendo las muestras tratadas de todas las variedades, no difirieron estadísticamente (p > 0,05) con los valores óptimos predichos del capítulo previo (prueba t-Student), en particular para el parámetro firmeza, a los días 0 y 14 de almacenamiento. La Tabla 25 ejemplifica la validación de la firmeza al día 14 para las muestras tratadas de cv. Fayette respecto a los valores predichos.

Tabla 25: Valores predichos y experimentales para el parámetro firmeza al día 14 de almacenamiento a 4 °C entre muestras cv. Granada a 0,25 kGy (ensayo de optimización/capítulo 2) y muestras cv. Fayette a 0,2 kGy (capítulo 3). Validación por prueba *t*-Student pareada.

	Valor predicho óptimo	Valor experimental	<i>t</i> -Student
Firmeza (N)	$1,7 \pm 0,9$	$1,1 \pm 0,5$	p > 0.05

4.4.3. Discusión

Los resultados presentados en el capítulo actual evidencian que, para las distintas variedades evaluadas, la dosis de irradiación optimizada en el capítulo previo, en conjunto con el envasado con film de baja permeabilidad al oxígeno, permitió conservar la calidad fisicoquímica, sensorial y fisiológica de los duraznos mínimamente procesados. Sin embargo, se hizo evidente que la aptitud varietal representa un parámetro importante a considerar, en virtud de las características intrínsecas naturales de cada cultivar, que responden de manera diferente ante ciertos estímulos climáticos y ambientales, así como ante variaciones en los parámetros de procesamiento pre y poscosecha (López-Morales *et al.*, 2021; Tiwari & Cummins, 2013).

Respecto a las condiciones climáticas, es sabido que cada variedad de cultivo necesita una combinación específica para alcanzar su potencial; sus ciclos están estrechamente ligados a acontecimientos particulares que se producen en determinados momentos (Fadón & Rodrigo, 2018). Por ejemplo, el aumento de las temperaturas por efecto del cambio climático hace que los frutales florezcan antes y se desarrollen más rápido, por lo que aparecen en el mercado variedades tempranas que necesitan menos horas de frío (Atkinson *et al.*, 2013). Por otro lado, la zona geográfica, los índices agronómicos y los factores de cosecha (incluida la fase de madurez) influyen significativamente en el contenido de compuestos fitoquímicos naturales de los cultivos (Naczk & Shahidi, 2006,

Padilla *et al.*, 2007, Vallejo *et al.*, 2003). Aparte de estos parámetros previos a la cosecha, las distintas etapas posteriores a la misma, incluidas las operaciones de procesado (por ejemplo, tratamientos térmicos, lavado, pelado y cortado, secado y enlatado) aplicados con el objetivo de garantizar inocuidad, extender la vida útil o desarrollar productos de conveniencia, también influyen de manera importante en la estabilidad de estos compuestos, los cuales podrían degradarse (Aaby *et al.*, 2007, Rawson *et al.*, 2010, Volden *et al.*, 2009). En función de esto, la industria debe seleccionar aquellas variedades más resistentes a las condiciones climáticas y a las fases de transformación que se aplican para obtener los diferentes productos.

En cuanto a los procesos de control de la calidad de la fruta, existen en la actualidad diferentes técnicas no destructivas, como por ejemplo, la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano por transformada de Fourier (FT-NIR) para la detección y clasificación de las variedades en una línea de producción (Tavakolian *et al.*, 2013), o la utilización de plataformas IoT (*Internet of things*) con herramientas de inteligencia artificial que generan información para predecir sucesos indeseables climáticos, interacciones sobre los cultivos y sus rendimientos, entre otros. A partir de una gran cantidad de datos experimentales, la tecnología permite hoy en día integrar y analizar para una toma de decisiones eficiente, tanto en el campo como en la industria. También se están simulando distintos escenarios para el desarrollo de variedades de fruta de carozo que mejor se adapten a un entorno específico (López-Morales *et al.*, 2021).

En cuanto al tratamiento evaluado, los resultados muestran que la dosis utilizada en el presente capítulo (0,2 kGy) permitió preservar los parámetros cromáticos y de firmeza estudiados, lo cual resulta coincidente con lo mostrado en los capítulos previos, en los que se aplicaron dosis bajas de irradiación (< 1 kGy), y solo se visualizaron cambios en la maduración de las frutas mayormente asociados al efecto propio del almacenamiento. En estudios previos realizados para evaluar el efecto de la irradiación y el tiempo de almacenamiento sobre la firmeza de diferentes variedades de arándanos, se reportó que, en general, la firmeza no es afectada por las dosis aplicadas (0,15 y 0,3 kGy), sino en mayor medida por el periodo de almacenamiento (1, 4, 7, 11 y 14 días), (Lires *et al.*, 2018).

Si bien en los capítulos previos se explicó que la irradiación gamma puede potencialmente inducir el ablandamiento de los tejidos, los resultados muestran que dosis suaves, como

las aplicadas en el presente ensayo, postergaron dicho efecto, el cual se evidenció recién a los 7 días de almacenamiento refrigerado luego de la aplicación. En consecuencia, resultaría interesante a nivel comercial aprovechar este efecto para recolectar los duraznos en un estado aún inmaduro, que permitiría una mejor manipulación poscosecha y procesamiento mínimo, y luego alcanzar con la aplicación del tratamiento de irradiación, valores óptimos de firmeza de consumo contemplando el período de tiempo inherente a la logística, desde la planta de irradiación hacia los centros de distribución y posteriormente a los comercios. Cabe destacar que este parámetro se mantuvo luego en el tiempo hasta los 14 días estudiados, por lo que la aplicación de este tratamiento en las dosis indicadas ayudaría a obtener un producto homogéneo disponible en el mercado.

Por otra parte, cobra importancia la percepción sensorial de los atributos, por lo que el análisis sensorial representó una herramienta de gran utilidad para complementar los estudios fisicoquímicos y bioquímicos hasta aquí realizados. Así, se pudo corroborar que los atributos de apariencia no fueron afectados por el tratamiento de 0,2 kGy, lo cual resulta coincidente con un estudio previo, en donde no se encontraron diferencias visuales entre las muestras control y las sometidas a dosis bajas de irradiación (0,3 - 1,0 kGy) en dos cultivares de mango incluidos en ese estudio (Mahto & Das, 2013). En otra publicación reciente, se encontró que dosis del orden de 0,15 kGy pueden utilizarse como tratamiento fitosanitario sin afectar sustancialmente a las propiedades sensoriales de mangos cv. Ataulfo (Cancino-Vázquez et al., 2020). En el presente capítulo, se identificó en cv. Dixiland y Fayette, que las intensidades tanto de olor como de flavor fueron siempre mayores en comparación con las otras variedades estudiadas, siendo las características intrínsecas varietales y los compuestos volátiles generados en el inicio de la maduración las responsables de dicho efecto, como se explicó en capítulos anteriores. Esto puede correlacionarse directamente con el leve aumento del olor y *flavor* a durazno, con el olor a sobremaduro, y con la reducción en el olor y flavor a verde presente en dichas variedades.

De manera semejante, los atributos de textura bucal no fueron afectados por el tratamiento, mientras que cv. Dixiland fue percibida como la variedad de mayor jugosidad y menor textura crujiente. Estudios previos revelaron que los consumidores muestran una mayor preferencia por granadas irradiadas a 0,4 kGy en comparación con las muestras control, debido una mayor percepción del descriptor "jugosidad" (Shahbaz *et al.*, 2014).

Todos estos atributos juegan distintos roles en la comprensión de la percepción sensorial de la calidad de los alimentos. En particular, el *flavor* general de las frutas y hortalizas frescas incluye varias sensaciones distintas, cobrando especial importancia los gustos dulces, ácidos y amargos. Es importante mencionar que la cantidad de azúcares y ácidos orgánicos (y la relación entre ambos) determinan a menudo la dulzura y la acidez de una fruta, y en algunas especies frutales particulares son incluso utilizados como índices de cosecha. Además, los compuestos volátiles son responsables del olor característico de muchas frutas y hortalizas.

Según Flores et al. (2012), uno de los factores más relevantes en el desarrollo del olor y del aroma de una fruta es la presencia y cantidad de ácidos orgánicos. En particular, los ácidos orgánicos predominantes en el durazno son el ácido málico, el ácido cítrico y el ácido quínico, los cuales disminuyen a medida que la fruta madura (Day et al. 1997; Rodríguez-Félix et al., 2011; Wu et al., 2003). La principal razón de esto es que estos compuestos son usados como sustratos respiratorios, y además pueden ser convertidos en azúcares. En los duraznos ensayados en el presente capítulo, el contenido de ácidos orgánicos se mantuvo estable ante el tratamiento de irradiación a la dosis aplicada, mientras que el mayor efecto sobre los mismos estuvo dado por el almacenamiento (una reducción en general). Con respecto a los cambios en la concentración de ácidos orgánicos durante el almacenamiento, en una investigación previa se observó en frutas frescas de durazno ev. Dixiland un aumento significativo del 37% en la concentración de ácido cítrico en el día 7 después de la cosecha, con una concentración de 0,4 g/100 g de peso fresco, mientras que el ácido málico no mostró cambios significativos (Borsani et al., 2009). En otro de los estudios, Fan et al. (2009) explican que el aumento de la concentración de ácidos durante las etapas de almacenamiento provoca un efecto de deterioro en la calidad de frutillas, que puede estar relacionado con la producción de ácidos debido al crecimiento de mohos.

Es interesante destacar la estabilidad del ácido málico frente a los tratamientos de irradiación gamma empleados, en contraposición a lo que sucede con la aplicación de tratamientos térmicos. En un estudio previo de nuestro grupo de investigación, se observó en tomates que la aplicación de tratamientos térmicos prolongados (incubación en una cámara tradicional a 38 °C y 95% de humedad relativa durante 72 h) provocaba una marcada disminución en la concentración del ácido málico, medido por análisis cromatográficos (Polenta *et al.*, 2006). De esta manera, se evidenció que los tratamientos

térmicos inducen un aumento en el metabolismo basal, acelerando particularmente la velocidad de consumo del ácido málico.

Por su parte, la determinación de ácido ascórbico se utiliza como marcador de la calidad nutricional de los duraznos ya que, por su gran susceptibilidad a la oxidación y a las altas temperaturas, el hecho de que un tratamiento no afecte su concentración sería indicativo de que la mayoría de las otras vitaminas y compuestos nutricionales tampoco se habrían alterado. Si bien los resultados indican que tanto los tratamientos de irradiación como el tiempo de almacenamiento no afectaron el contenido de este compuesto, es importante mencionar que se encontró una cierta variabilidad entre los diferentes cultivares analizados. Entre las causas de este fenómeno se podrían mencionar a la variabilidad propia de la materia prima y, principalmente, a las diferencias en la impregnación del compuesto durante el baño de ácido ascórbico en la preparación de las muestras.

Es interesante considerar que el proceso de enlatado en productos frutihortícolas, mediante el cual se obtiene también un producto de vida útil extendida, provoca inmediatamente después del tratamiento una pérdida de hasta el 90% del ácido ascórbico según la matriz vegetal que se trate (Rickman *et al.*, 2007), por lo que la irradiación gamma ofrece la gran ventaja de preservar un compuesto sumamente sensible a los tratamientos térmicos, siempre y cuando se aplique a dosis adecuadas. Desde este punto de vista, deben evitarse en frutas las dosis mayores a 1 kGy, ya que pueden causar la reducción de este compuesto debido principalmente a la oxidación del ácido ascórbico a través de la acción de los radicales OH generados durante el proceso (Simic, 2018; Wong & Kitts, 2001).

Diversas publicaciones científicas llevadas a cabo con otras especies frutihortícolas demostraron que la concentración de ácido ascórbico se reduce un 24% y un 53% (p < 0,05) a dosis de 1 y 4 kGy, respectivamente (Fan & Sokorai, 2008), mientras que dosis de 0,3, 0,6 y 0,9 kGy sólo influían levemente en el nivel de esta vitamina, siendo el efecto del tiempo de almacenamiento el principal causante de su reducción (Hussain *et al.*, 2012; Maraei & Elsawy, 2017).

Los azúcares representan otro tipo de compuestos de interés, que generalmente sufren alteraciones durante el proceso de maduración de las frutas, además de los tratamientos poscosecha aplicados. En la maduración, los cambios a nivel de carbohidratos se derivan de la conversión del almidón en azúcares solubles, incrementándose el gusto dulce en las

frutas; también hay degradación de carbohidratos poliméricos, almidón y celulosa, por lo que además del *flavor*, se ve afectada la textura del producto (Hiwasa & Ezura, 2014). Los principales azúcares presentes en el durazno son sacarosa, glucosa, fructosa y en menores cantidades sorbitol (Cantín *et al.*, 2009) e inositol, este último con una concentración del 1,1% (Moriguchi *et al.*, 2007).

En el presente capítulo, al igual que para los ácidos orgánicos, el efecto del tiempo de almacenamiento predominó frente al de la dosis de irradiación, reduciéndose la concentración de sacarosa al aumentar el tiempo de conservación a 4°C. Estudios realizados por Borsani *et al.*, (2009) en duraznos frescos cv. Dixiland mostraron una disminución significativa del 22% en el contenido de sacarosa de las frutas en el día 7 después de la cosecha, alcanzándose un contenido aproximado de 2,5 g/100 g de peso fresco. Asimismo, para ese día, se presentó un aumento significativo de entre 28 y 32% en el contenido de glucosa y fructosa, con valores aproximados de 0,96 y 0,97 g/100 g de peso fresco, respectivamente, mientras que el contenido de sorbitol en el momento de la cosecha fue de 0,22 g/100 g de peso fresco, tornándose indetectable al día 7. En ese momento, un panel sensorial refirió un gusto más dulce de las frutas, gracias al mayor poder edulcorante de la fructosa.

Es importante mencionar que, en los estadios de almacenamiento más avanzados, parte de la glucosa y la fructosa es consumida para producir energía por el sistema de defensa de la fruta a través del mecanismo fenilpropanoide (Dixon & Paiva, 1995; Matsuda *et al.*, 2005). En consecuencia, Victoria-Escamilla *et al.*, (2013) indican que en la etapa poscosecha, los cultivos presentan modificaciones a nivel de calidad, valor nutricional y propiedades organolépticas, como resultado del balance entre la producción de azúcares a partir de almidón y la degradación y consumo de los mismos y otros compuestos orgánicos en el metabolismo respiratorio. Las fluctuaciones en el contenido de azúcar en frutas climatéricas se atribuyen a la maduración y al momento de consumo (Durán-Soria *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2018).

Respecto al efecto del tratamiento de irradiación, estudios previos muestran que el contenido de sólidos solubles totales permanece relativamente constante entre muestras de mango control e irradiadas a 0,5 kGy, mientras que todas las muestras experimentaron un aumento del contenido de azúcar (p < 0,05) después de dos semanas, siendo las muestras control las que mostraron el incremento más sustancial (Tabassum *et al.*, 2023).

Prakash y Ornelas-Paz (2019) observaron que las dosis bajas de irradiación (0,075 y 0,3 kGy) no alteraban el contenido de glucosa, fructosa o sacarosa en limones, pepinos, nectarinas, papayas, caquis, calabacines y mandarinas.

Los estudios de correlación entre los parámetros sensoriales e instrumentales son utilizados cada vez más como una herramienta en la etapa de desarrollo de productos en la industria alimentaria (Frontela et al., 2006). Las tendencias actuales incluyen el uso de correlaciones múltiples para comprender mejor relación entre el proceso, la percepción sensorial y las propiedades fisicoquímicas de los alimentos. El estudio de las propiedades sensoriales basado en medidas instrumentales permite identificar las causas fisicoquímicas de cada atributo sensorial, en la generación de flavors y texturas, entre otros. En función de lo comentado anteriormente, resulta evidente la necesidad de establecer un método que permita analizar, de forma simultánea las variables disponibles tanto sensoriales como instrumentales, con el fin de estandarizar el proceso de entrenamiento de sistemas (Acosta, 2010). Vázquez et al. (2014) han estudiado en forma detallada la relación entre ambos tipos de sistemas, pudiendo mencionarse la relación entre calidad sensorial y las características cromáticas o entre el análisis sensorial y el perfil de compuestos volátiles. Sin embargo, existen pocos estudios que hayan establecido una correlación compleja entre las propiedades instrumentales y sensoriales (Alcaraz-Marmol et al., 2015). En consecuencia, se resalta la importancia de lo abordado en el presente capítulo a través de la utilización del análisis multivariado, para correlacionar las variables al día inicial del almacenamiento y, además, caracterizar la aptitud varietal en función del tratamiento aplicado.

Aunque los consumidores juzgan la calidad de los productos mínimamente procesados basándose en la apariencia y frescura en el momento de la primera adquisición, la probabilidad de realizar compras posteriores del mismo producto depende de la satisfacción lograda en términos de textura y el sabor, pero con un interés constante en la calidad nutricional y la inocuidad (Mondito & Ferratto, 2006; Rico *et al.*, 2007). En este sentido, es importante el establecimiento de una relación estrecha entre los parámetros instrumentales con los sensoriales.

Entre los hallazgos de mayor relevancia, puede mencionarse a la correlación encontrada entre atributos como la intensidad de apariencia, el gusto dulce y la jugosidad y su efecto sobre la reducción en la firmeza determinada. También resulta interesante el hecho de

que, mediante atributos como la intensidad de apariencia, el brillo, la intensidad de olor, y el olor a durazno y sobremaduro pueda estar relacionado con la disminución en el contenido de ácido ascórbico presente. Además, la intensidad de apariencia, el brillo, la intensidad de olor y *flavor*, el *flavor* a durazno y el gusto dulce podrían describir el efecto en la concentración de azúcares determinados de forma experimental. Adicionalmente, el análisis permitió determinar que las muestras ensayadas de cv. Dixiland, en particular aquellas irradiadas, presentaron características típicas de frutas maduras, como, por ejemplo, jugosidad, *flavor* y olor a durazno, gusto dulce, homogeneidad de apariencia, entre otros.

En cuanto al efecto varietal, investigaciones previas evidenciaron que la fruta de diferentes cultivares de durazno presentaban una variación en el contenido de metabolitos clave implicados en las propiedades sensoriales. Se pudo hipotetizar que la irradiación gamma a dosis de 1,0 kGy aceleran la maduración de los duraznos, ya que las muestras irradiadas se describieron como dulces y con *flavor* a durazno, mientras que las muestras control tenían un gusto ácido y *flavor* a verde, relacionados con la fruta inmadura (Pieroni *et al.*, 2023).

Como fuera comentado, uno de los hallazgos más relevantes fue el hecho de que a través de estudios inmunológicos específicos pudo detectarse la sobreexpresión de las familias sHSP y HSP70, sólo en frutas expuestas a irradiación, en mayor medida en cv. Dixiland y Fayette, las cuales serían capaces de inducir mecanismos de defensa bioquímicos, lo cual tendría un potencial efecto protector contra daños fisiológicos. Como se ha señalado anteriormente, este mecanismo de tolerancia formaría parte de la adaptación evolutiva de los tejidos vegetales a diferentes perturbaciones externas, pero puede tener una aplicabilidad promisoria para mejorar la conservación de frutas y hortalizas (Sun *et al.*, 2010; Sung *et al.*, 2014).

En una aplicación totalmente diferente y alejada de los alimentos, específicamente en medicina oncológica, dicho fenómeno es bien conocido, ya que diferentes estudios mostraron que dosis bajas de radiación ionizante pueden inducir en los tumores respuestas adaptativas relacionadas con la síntesis de HSP, protegiéndolos de los efectos nocivos de una posterior exposición a altas dosis de radiación (Liu *et al.*, 1990, Schmid & Multhoff, 2012; Wolff *et al.*, 1989). También se informó sobre un mecanismo similar en microorganismos, en los cuales parte de la respuesta a la aplicación de tratamientos de

irradiación fue también la inducción de HSP (Caillet *et al.*, 2008). En este último caso, el aumento de HSP fue altamente dependiente de la dosis de rayos gamma (sólo se verificó para dosis bajas), lo que evidenciaría la función citoprotectora frente al estrés por radiación ionizante. Desde un punto de vista práctico, esta respuesta puede considerarse una desventaja de la irradiación a dosis bajas como tratamiento de desinfección, ya que, contrariamente a la protección deseada en el caso de las frutas conservadas, las dosis bajas podrían aumentar la resistencia de las bacterias patógenas y alterantes a este tipo de tratamientos. Sin embargo, estas proteínas podrían utilizarse como biomarcadores para optimizar y seleccionar los tratamientos más adecuados, según la matriz alimentaria y el objetivo que se busca lograr.

4.4.4. Conclusiones

En este capítulo se llevó a cabo un estudio integral de diversas propiedades fisicoquímicas, sensoriales y fisiológicas de duraznos mínimamente procesados y tratados por irradiación gamma en la dosis optimizada en los capítulos anteriores. La irradiación representa una tecnología no térmica de preservación que, a pesar de no considerarse como emergente, todavía tiene un gran potencial de aplicación, sobre todo en alimentos. En el presente capítulo, se caracterizó además la aptitud de diferentes variedades para ser sometidas a este tratamiento a través del análisis multivariado entre parámetros instrumentales bioquímicos y propiedades sensoriales. Entre los cultivares estudiados, se pudo inferir que cv. Dixiland sería el más adecuado para el procesamiento mínimo y la aplicación de irradiación gamma. En cuanto a la intensidad óptima, se confirmó el hecho de que dosis suaves de irradiación de 0,2 kGy podrían mantener estables las propiedades de calidad fisicoquímicas, mientras que tendría un efecto potenciador sobre distintos atributos sensoriales asociados a la maduración de la fruta. Por otra parte, el tiempo de almacenamiento fue el principal factor de deterioro, mitigado en conjunto con la combinación de la tecnología de irradiación gamma con atmosferas modificadas. Además, los hallazgos relacionados con el mecanismo bioquímico de inducción de defensa fisiológica en los duraznos pueden abrir una nueva perspectiva para la irradiación de productos frutihortícolas, y proporcionar una herramienta analítica capaz de predecir y optimizar la eficacia de los tratamientos. Por lo tanto, puede concluirse que el estudio permitió el desarrollo exitoso de un paquete tecnológico robusto capaz de garantizar la calidad del producto final.

5. CONCLUSIONES



5. CONCLUSIONES GENERALES

En el presente trabajo de investigación se propuso avanzar en la obtención de un producto final con alta calidad sensorial, nutricional, y vida útil extendida a base de duraznos mínimamente procesados mediante la combinación de diferentes tecnologías, incluyendo la aplicación de un tratamiento de irradiación gamma y envasado con atmósferas modificadas. Con este objetivo, se estudió el efecto de diversos factores, como la aptitud varietal, la madurez de cosecha y las tecnologías de procesamiento en diferentes condiciones, sobre distintos parámetros bioquímicos, sensoriales y fisiológicos de duraznos mínimamente procesados.

A través del diseño y ejecución de diversos ensayos, del desarrollo de distintas técnicas de laboratorio y del análisis de los resultados, se logró cumplir de manera satisfactoria con cada uno de los objetivos planteados en el trabajo de tesis. En primer lugar, se seleccionaron cuidadosamente distintas variedades de durazno en función de la oferta de la temporada, con el objetivo de evaluar las más aptas para el procesamiento, además de definir las condiciones del mismo, tomando como referencia la aplicación de dosis bajas ($\leq 1 \text{ kGy}$) establecidas en estudios bibliográficos previos. En un primer ensayo pudieron establecerse las operaciones para el procesamiento mínimo de los duraznos y se concluyó que el tratamiento de irradiación preserva los parámetros cromáticos con una reducción de la firmeza, pero también induce una mayor estabilización de la misma durante el período de conservación, independientemente de la variedad.

Un análisis integral posterior permitió determinar que la aplicación de una dosis de 1,0 kGy, en combinación con un envasado con films de baja permeabilidad al oxígeno, produce una mínima alteración del color y pardeamiento, un aumento en la capacidad antioxidante según la variedad y ablandamiento de los tejidos. Si bien no existe una evidencia directa, esto último representa una ventaja tecnológica, ya que permitiría cosechar a las frutas en un estadio más temprano de maduración, lo cual favorece el manejo logístico, al prevenir el debilitamiento de sus estructuras y disminuir la susceptibilidad al daño mecánico y al ataque de patógenos, reduciendo en consecuencia las pérdidas poscosecha. Sería interesante evaluar la aceptabilidad global de la fruta irradiada y cosechada en diferentes grados de madurez. Además, se comprobó el hecho de que el tratamiento por irradiación gamma constituye una tecnología no térmica, monitoreando la temperatura del producto mientras se aplicaban los tratamientos, y que

también impide de manera efectiva el desarrollo de la microbiota alterante, como es el caso de hongos filamentosos.

El análisis de optimización arrojó como resultado 0,25 kGy, como dosis óptima para preservar los parámetros fisicoquímicos, por lo que se seleccionó este valor para los estudios posteriores. A nivel fisiológico, con la aplicación de tratamientos a bajas dosis (0,1 y 0,3 kGy) se identificó en los duraznos, la inducción de unas proteínas específicas, que se expresan ante exposiciones al estrés, y que podrían utilizarse como biomarcadores para seleccionar los tratamientos más adecuados.

Por otra parte, se concluye que la elección de la materia prima para el proceso es determinante de la calidad del producto final, por lo que la identificación de la aptitud varietal representa un gran desafío. En este sentido, se correlacionaron variables instrumentales con sensoriales, y se determinó que, en el ensayo realizado, las muestras de cv. Dixiland irradiadas a 0,2 kGy mantuvieron estables las propiedades de calidad fisicoquímicas, mientras que presentaron atributos sensoriales asociados con la madurez de consumo y la defensa fisiológica ante el estrés generado.

Es importante resaltar que el procesamiento de frutas y hortalizas ha ido evolucionando con los avances tecnológicos y con las exigencias crecientes de los consumidores en cuanto a disponibilidad de productos en distintas épocas del año, practicidad de preparación y consumo. Esto ha llevado a estimular la producción de alimentos fáciles de preparar o listos para consumir, de excelente calidad nutricional y sensorial, y con uso mínimo de aditivos, privilegiando los tratamientos físicos sobre los químicos, y respetando al medio ambiente, tanto durante su elaboración, transporte y consumo. En función de estos aspectos, el producto estudiado en la presente tesis se presenta como promisorio para satisfacer las demandas de los consumidores más exigentes, ya que la tecnología desarrollada permite la elaboración de un producto con un alto grado de "frescura" (dadas sus características de apariencia, textura y *flavor*, y sus procesos metabólicos activos), de buena calidad nutricional, con un mínimo agregado de aditivos y listo para consumir.

En función de los aspectos estudiados en el presente trabajo de tesis, como en lo desarrollado en otros trabajos de investigación, puede concluirse que la aplicación de irradiación gamma constituye una barrera de preservación efectiva y promisoria para extender la vida útil de distintos alimentos. Sería esperable que esta tecnología pueda

transformarse a futuro en un proceso agroindustrial con un mayor grado de difusión, favoreciendo el agregado de valor, con un impacto económico y comercial de gran relevancia.

Estas investigaciones contribuyen a establecer las bases y conocimientos científicotecnológicos necesarios para ampliar la oferta de productos ionizados en el mercado,
generando información validada, que pueda contribuir a educar y revertir la actitud y los
prejuicios del consumidor sobre esta tecnología. Esto debería estar acompañado por una
política agroalimentaria orientada hacia la calidad integral, incluyendo no sólo los
aspectos de calidad e inocuidad, sino también incorporando de forma eficiente los
conceptos de trazabilidad, la evaluación de aceptabilidad sensorial, el cuidado del medio
ambiente, la innovación tecnológica e identidad territorial y la diferenciación. Es
fundamental, en este sentido, entender lo que la demanda requiere, teniendo en cuenta la
garantía de inocuidad, las normas técnicas, certificaciones, cuestiones ambientales,
económicas y sociales, la orientación hacia el agregado de valor a las materias primas, y
la sustentabilidad de los procesos.

Perspectivas futuras

Esta investigación puede considerarse como un punto de partida hacia nuevas líneas de estudio, generando un abanico de variables a analizar para el uso de irradiación gamma sobre frutas y hortalizas mínimamente procesadas. Además, los resultados obtenidos y las metodologías desarrolladas serán una fuente valiosa de información para el desarrollo de futuras investigaciones que permitan establecer en forma más precisa el efecto de tecnologías de irradiación para la preservación y contribuyan al desarrollo de productos vegetales irradiados. Entre las líneas a continuar en futuras investigaciones, se pueden citar las siguientes:

- Estudiar, además de la aptitud varietal, el momento de maduración óptimo de los duraznos para el procesamiento y aplicación de tratamientos de irradiación gamma.
- Estudiar con mayor detalle los efectos que imparte la tecnología de irradiación en los compuestos relevantes involucrados en los fenómenos bioquímicos, sensoriales y morfológicos de los productos vegetales, como por ejemplo, el efecto sobre el perfil de polifenoles y compuestos volátiles, sobre la actividad y expresión de las enzimas de pared, tales como PG, PME y sobre las proteínas de membrana, así como estudiar por ejemplo,

- el efecto sobre la ultraestructura de los tejidos por microscopía electrónica de transmisión (TEM).
- Realizar un análisis microbiológico tendiente a evaluar la eficacia de estos tratamientos para la inactivación microbiana, incorporando variables como el recuento de microorganismos aerobios y anaerobios, psicrótrofos, bacterias ácido-lácticas, hongos y levaduras, así como ensayos de desafío con microorganismos patógenos que pueden llegar a contaminar productos mínimamente procesados (Ej. *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*).
- Analizar la genómica funcional de los duraznos mínimamente procesados tratados por irradiación gamma para evaluar la expresión relativa de las enzimas PPO, PAL y ADH a nivel de ARNm con respecto al producto sin irradiar mediante la amplificación por RT-PCR en tiempo real.
- Ensayar con consumidores la aceptabilidad de los duraznos mínimamente procesados preservados mediante irradiación gamma. Evaluar la percepción del consumidor hacia los productos tratados con esta tecnología.
- Evaluar la acción sinérgica de la irradiación, con otras estrategias, por ejemplo, la aplicación del compuesto 1-MCP (1-metilciclopropeno), el cual se utiliza para bloquear la unión del etileno a las células, logrando de esta forma disminuir la tasa de respiración.
- Investigar otras tecnologías de irradiación, como electrones acelerados o rayos X, y otras tecnologías de conservación no térmicas como el ultrasonido y altas presiones hidrostáticas, con la posibilidad de combinarlos con tratamientos térmicos suaves, para preservar frutas mínimamente procesadas.
- Evaluar el efecto de diferentes atmósferas modificadas sobre la preservación de los duraznos mínimamente procesados.
- Evaluar si alguna de las operaciones aplicadas durante el procesamiento mínimo de los duraznos constituye un estrés en los duraznos mínimamente procesados, capaz de inducir un incremento de compuestos bioactivos y evaluar su estabilidad durante el almacenamiento refrigerado.
- Aplicar la dosis de irradiación optimizada en la presente tesis en frutas enteras y estudiar en ellas la inducción de proteínas de estrés térmico y su posible efecto para mitigar el daño por frío, lo cual permitiría un almacenamiento y transporte más eficientes.

- Realizar una extrapolación de los resultados de escala laboratorio a industrial. A partir de ello, generar un estudio de prefactibilidad técnica y económica que analice de forma integral el procesamiento de los duraznos, incluyendo la aplicación de tecnologías de irradiación.
- Utilizar una combinación de herramientas informáticas y estadísticas, a través de algoritmos de inteligencia artificial con el fin de analizar de manera compleja la diversidad de datos obtenidos, que sean capaces de encontrar interacciones, patrones y optimización de procesos. Por ejemplo, el uso de algoritmos de *clustering "K-means"*, los cuales permiten clasificar y agrupar los datos a gran velocidad, o técnicas de *deep learning* empleando redes neuronales para entrenar datos, generar programas que puedan auto-aprender y obtener una toma de decisiones precisa en el tiempo.
- Crear e implementar encuestas, programas educativos y de difusión sobre la seguridad del procedimiento de irradiación para aumentar la confianza del consumidor en los alimentos irradiados y fomentar su consumo/comercio a futuro.
- Gestionar el conocimiento profesional y técnico, el enfoque en la investigación y desarrollo, proyectar planes de negocios y de marketing para ampliar el mercado, analizar las tendencias innovadoras en el diseño de plantas de irradiación en el mundo y la participación de las Entidades Reguladoras que fomenten el desarrollo de experiencia en las técnicas y promuevan el uso de las tecnologías nucleares con fines pacíficos y en condiciones de seguridad tecnológica y física, con el lema "Átomos para la paz y el desarrollo" (OIEA).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS





6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaby, K., Wrolstad, R.E., Ekeberg, D., Skrede, G. (2007). Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees; Impact of achene level and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5156–5166.

Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., & Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1–2), 121-129.

Acosta, C. (2010). Análisis multivariado para la identificación de componentes generadores de sabor y aroma en productos alimenticios. The NEFE Quarter Century Project: Implications for Researchers, Educators, and Policy Makers from a Quarter Century of Financial Education, 49.

Adam, S. (1983). Recent developments in radiation chemistry of carbohydrates. En: *Recent advances in food irradiation*, 149-170. Elías, P.S.y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

Africano, K., Almanza, P.J. y Balaguera-López, H.E. (2015). Fisiología y bioquímica de la maduración del fruto de durazno [Prunus persica (L.) Batsch]. Una Revisión. Rev. *Colomb. Cienc. Hortic.* 9 (1), 161-172. Doi: 10.17584/rcch.2015v9i1.3754.

Aghdam, M.S., Sevillano, L., Flores, F.B., Bodbodak, S. (2015). The contribution of biotechnology to improving post-harvest chilling tolerance in fruits and vegetables using heat-shock, *J. Agric. Sci.*, 153, 7–24. https://doi.org/10.1017/S0021859613000804.

Akami, M., Clarke, A. R., & Armstrong, K. F. (2016). Effects of irradiation on Bactrocera dorsalis (Diptera: Tephritidae) adults: mortality, sterility, wing malformation, oviposition, longevity, and mating competitiveness. Journal of Economic Entomology, 109(3), 1272–1280.

Akamine, E.K. & Moy, J.H. (1983). Delay in postharvest ripening and senescence of fruits, *Preservation of Food by Ionizing Radiation*. Vol. III. (E.S. Josephson and M.S. Peterson, eds.), CRC Press, Boca Raton.

Akbudak, B. & Eris, A. (2004). Physical and chemical changes in peaches and nectarines during the modified atmosphere storage. *Food Control* 15, 307-313. Doi: 10.1016/S0956-7135(03)00082-3.

Alam, M. J., Anjum, F. M., & Altaf, I. (2018). Gamma irradiation: A tool for microbial decontamination of fruits and vegetables. Microbial Pathogenesis, 121, 1–5.

Alcaraz-Marmol, F., Jáuregui, N.N., Calín-Sánchez, A., Carbonell-Barrachina, A. Hernandez, F., Nicolás, J.J. (2015). Correlación entre la textura instrumental y textura sensorial como herramienta para establecer un punto de corte sobre la aceptación de diferentes variedades de granada. Actas de Horticultura, 71. 47-50.

Ali, A., Wei KeatYeoh, Charles Forney, and Mohammed Wasim Siddiqui (2019). Advances in postharvest technologies to extend the storage life of minimally processed fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1339180.

Ali, N. & Banu, N. (1991). Heat shock proteins: molecular chaperones. *Biochem Educ.*, 19, 166–172.

Ali, S., Khan A.S., Malik A.U., Shahid M. Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruits. (2016). *Food Chem.*, 206,18–29. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.021.

Al-juhaimi, F., Ghafoor, K., Özcan, M.M., Jahurul, M.H.A., Babiker, E.E., Jinap, S., Sahena, F., Sharifudin, M.S., Zaidul, I.S.M. (2018). Effect of various food processing and handling methods on preservation of natural antioxidants in fruits and vegetables. *J Food Sci Technol*, 55, 3872–3880.

Altube, H., Budde C., Ontivero, M., Rivata, R. (2001). Determinación de los índices de cosecha de duraznos cvs. Flordaking y San Pedro. *Agric. Tec.* 61(2), 140-150. Doi: 10.4067/s0365-28072001000200004.

Altuner, E., & Tokuşoğlu, Ö. (2013). The effect of high hydrostatic pressure processing on the extraction, retention and stability of anthocyanins and flavonols contents of berry fruits and berry juices. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(10), 1991-1997.

Andrade-Cuvi, M.J., Valarezo, L.E., Guijarro-Fuertes, M., Lárraga-Zurita, P., Alcívar León, C.D., Vasco, C., Vargas-Jentzch, P. (2019). Evaluación del uso de radiación gamma como tratamiento poscosecha en naranjilla (Solanum quitoense). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20(1).

Artés-Hernández, F., Gómez, P. A., Aguayo, E., Tomás-Callejas, A., & Artés, F. (2014). Sustainable processing of fresh-cut fruit and vegetables. Sustainable Food Processing (eds. BK Tiwari, T. Norton, NM Holden). John Wiley & Sons, USA, 219-268.

Asociación Latinoamericana de Tecnologías de la Irradiación (ALATI) (2014). [Acceso 2 julio 2020]. (http://www.alati.la/actividades-primer-encuentro-tecnico.html)

Asociación Latinoamericana de Tecnologías de la Irradiación (ALATI) (2020). Conferencias ALATI: Ionización de alimentos y Visita virtual a planta industrial multipropósito de ionización. Organizada por ALATI y la Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios (AATA) [10 de noviembre de 2020]. *Video disponible en:* (https://www.alati.la/conferencias-02.html#content4-23y)

Asociación Latinoamericana de Tecnologías de la Irradiación (ALATI) (2022). Reunión Balance y Objetivos cumplidos. Grupo Ciencia y Tecnología (14/12/2022). https://www.alati.la/conferencia-2022-11-14.html)

Atkinson, C.J., Brennan, R.M., Jones, H.G. (2013). Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. *Environ. Exp. Bot.*, 91, 48–62.

Aubert, C., Z. Günata, C. Ambid y R. Baumes (2003). Changes in physicochemical characteristics and volatile constituents of yellow - and White fleshed nectarines during maturation and artificial ripening. *J. Agr. Food Chem.* 51(10), 3083-3091. Doi: 10.1021/jf026153i.

Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN), (2019). Revisión 4. Norma básica de seguridad radiológica. Resolución del Directorio de la Autoridad Regulatoria Nuclear Nº 521/19 (Boletín Oficial 19/11/19). [Acceso 13 febrero 2023]. (https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/221402/20191119)

Ayaz, F., Demir, O., Torun, H., Kolcuoglu, Y., & Colak, A. (2007). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Food Chemistry*, 106, 291-298.

Barkai-Golan R. and Follett. P.A. (2017) Irradiation for Quality Improvement, Microbial Safety, and Phytosanitation of Fresh Produce. *Academic Press*, Elsevier. ISBN: 978-0-12-811025-6.

Barreiro, J. & Sandoval, A. (2001). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. p. 359.

Barrett, D., Beaulieu, J. & Shewfelt, R. (2010). Color, Flavor, Texture, and Nutritional Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Desirable Levels, Instrumental and Sensory Measurement, and the Effects of Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369-389.

Barry, G. H., le Roux, S. (2010). Preharvest foliar sprays of prohexadione-calcium, a gibberellin-biosynthesis inhibitor, induce chlorophyll degradation and carotenoid synthesis in Citrus rinds. *Hort Science*, 45, 242-247.

Basile, A., Sorbo, S., Conte, B., Cardi, M., Esposito, S. (2013). Ultrastructural changes and Heat Shock Proteins 70 induced by atmospheric pollution are similar to the effects observed under in

vitro heavy metals stress in Conocephalum conicum (Marchantiales–bryophyta). *Environ. Pollut.*, 182, 209–216. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.014.

Basson, R.A. (1983). Recent advances in radiation chemistry of vitamins. En: *Recent advances in food irradiation*. Elías, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier, Amstedam, 189-201.

Benzie, I. F. F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.

Bialek, M., Umaczyńska, J., Waszczynskyj, N., & Złotek, U. (2020). Effect of gamma radiation on physical and chemical properties of bananas. *Food Chemistry*.

Bierkens, J. (2000). Application and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. *Toxicology*, 153, 61-72.

Boletín de Frutas y Hortalizas / Convenio INTA- CMCBA Nº 78. Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. (Mayo 2018). [Acceso 10 junio 2019]. (http://www.mercadocentral.gob.ar/sites/default/files/docs/boletin-INTA-CMCBA-78-durazno 0.pdf)

Boletín de Frutas y Hortalizas / Convenio INTA- CMCBA Nº 94. Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. (Mayo 2019). [Acceso 12 junio 2019] (http://www.mercadocentral.gob.ar/sites/default/files/docs/boletin-INTA-CMCBA-94-durazno.pdf)

Bonany, J., Carbó, J., Echeverria, G., Hilaire, C., Cottet, V., Iglesias, I., Jesionkowska, K., Konopacka, D., Kruczyńska, D., Martinelli, A., Predieri, S., Medoro, C., Liverani, A. (2014). Eating quality and European consumer acceptance of different peach (Prunus persica (L.) Batsch) varieties. *J. Food. Agric. Environm.* 12, 67–72. https://doi.org/10.1234/4.2014.4131.

Bonilla, M. (2015). Irradiación de alimentos: qué es, cuándo y dónde se utiliza. [Acceso 20 octubre 2020]. (https://www.elespanol.com/cocinillas/actualidad-gastronomica/20150331/irradiacion-alimentos-utiliza/22247783 0.html)

Borsani, J., Budde, C., Porrini, L., Lauxmann, M., Lombardo, V., Murray, R., Andreo, C., Drincovich, M., Lara, M. (2009). Carbon metabolism of peach fruit after harvest: changes in enzymes involved in organic acid and sugar level modifications. *J. Exp. Bot.*, 60(6), 1823-1837. Doi: 10.1093/jxb/erp055.

Bortoletto, D., Saji, F., Tezotto, J., Berno, N. y Kluge, R. (2012). Atributos de qualidade de framboesas 'Autumn Bliss' tratadas com radiação gama. Brasil: Universidade de São Paulo. Departamento de Ciências Biológicas.

Bourne, M. (2002) Principles of objective texture measurement. Chapter 4 in: Food Texture and Viscosity. Concept and Measurement. 2nd edition. Academic Press, London, 182-186.

Boylston, T.D, Reitmeir, C.A., Moy, J.H., Mosher, G.A. and Taladriz, L. (2002). Sensory Quality and Nutrient Composition of Three Hawaiian Fruits treated by X-irradiation. *Journal of Food Quality*, 25, 419-433. https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2002.tb01037.x.

Brandi, F., E. Bar, F. Mourgues, G. Horvath, E. Turcsi, G. Giuliano, A. Liverani, S. Tartarini, E. Lewinsohn y C. Rosati. (2011). Study of 'Redhaven' peach and its white-fleshed mutant suggests a key role of CCD4 carotenoid dioxygenase in carotenoid and norisoprenoid volatile metabolism. *BMC Plant Biol.* 11:24. Doi: 10.1186/1471-2229-11-24.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 22, 25–30.

Brodl, M. (1989). Regulation of the synthesis of normal cellular proteins during heat shock. *Physiol Plant*, 75, 439–443.

Brynjolfsson, A. (1978). Energy and food irradiation, *Food Preservation by Irradiation*, vol. II, STI/PUB/470, IAEA, Vienna.

Bücher, T. & Redetzki, H. (1951). Einespezifischephotometrische Bestimmung von Ethylalkohol auf fermentativem Wege, *Klinische Wochenschrift*, 29, 615–616.

Budde, C., A. Tula, G. Polenta, C. Lucangeli y R. Murray. (2003). El color de fondo y la dureza como estimadores no destructivos de la firmeza de la pulpa en duraznos. *Rev. Iberoamer*. *Tecnol. Postcosecha* 5(2), 134-139.

Byron, D.H. (2011). International symposium on food irradiation – role of irradiation in food safety and security. *In: Food and Environmental Protection Newsletter*, vol. 14, 7–9.

Caillet, S., Millette, M., Dussault, D., Shareck, F., Lacroix, M. (2008). Effect of gamma radiation on heat shock protein expression of four foodborne pathogens. J. *Appl. Microbiol.*, 105, 1384–1391. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03891.x.

Calvo, M. (2007). Bioquímica de los Alimentos. [Actualizado a Febrero 2013]. (http://milksci.unizar.es/bioquímica/temas/enzimas/tirosinasa.html)

Calzada, V. & Cerecetto, H. (2019). Una introducción a la Química Nuclear. Montevideo, Universidad de la República. Comisión Sectorial de Enseñanza, p. 1115 – (Manuales didácticos / Comisión sectorial de Enseñanza). ISBN: 978-9974-0-1643-9.

Campbell, O., & Padilla-Zakour, O. (2013). Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunus persica*) and apricots (*Prunus armeniaca*) as affected by variety and peeling. *Food Research International*, 54(1), 448-455.

Cancino-Vázquez, R., Salvador-Figueroa, M., Hernández-Ortiz, E., Grajales-Conesa, J., Vázquez-Ovando, A. (2020). Gamma Irradiation of Mango 'Ataulfo' at Low Dose: Effect on Texture, Taste, and Odor Fruit. *Food Science and Technology Research*, 26(1), 59-64, https://doi.org/10.3136/fstr.26.5.

Cantín, C., Gogorcena, Y., Moreno, M. (2009). Analysis of phenotypic variation of sugar profile in different peach and nectarine [Prunus persica (L.) Batsch] breeding progenies. *J. Sci. Food Agr.*, 89, 1909-1917. Doi: 10.1002/jsfa.3672

Cap, M., Lires, C., Cingolani, C., Mozgovoj, M., Soteras, T., Gentiluomo, J., Principe, F., Sucari, A., Horak, C., Signorini, M., Vaudagna, S.R., Leotta, G. (2021). Identification of the gamma irradiation dose applied to ground beef that reduces Shiga toxin producing *Escherichia coli* but has no impact on consumer acceptance. *Meat Sci.*, 174:108414. doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108414.

Carranco, M., M. Calvo y F. Pérez-Gil. (2011). Carotenoi- des y su función antioxidante: Revisión. *Arch. Latinoam. Nutr.* 61 (3), 233-241.

Cascales, A., E. Costell, F. Romojaro. 2005. Effects of the degree of maturity on the chemical composition, physical characteristics and sensory attributes of peach (*Prunus persica*) cv. Caterin. *Food Science & Technology International*. 11(5), 345-352. Doi: 10.1177/1082013205057943.

Castell-Perez, M.E., Moreira, R.G. (2021). Irradiation and Consumers Acceptance. *Innovative Food Processing Technologies*. 122–35. doi: 10.1016/B978-0-12-815781-7.00015-9.

Castro, A. y Puentes, G. (2012) Ciruelo y duraznero (*Prunus salicina* Lindl) - (*Prunus persica* (L.) Batsch). *En: Fischer, G. (ed.). Manual para el cultivo de frutales en el trópico*. Produmedios, Bogotá. 370-392.

Centro Atómico Ezeiza (2022). Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI). Recuperado el 13 de abril de 2023 de: (https://www.argentina.gob.ar/cnea/cae/planta-de-irradiacion-semi-industrial-pisi)

Cheng, T.S., Huang, P.C., Pan, J.P., Lin, K.Y., Mao, S.J.T. (2007). Gel electrophoresis of polyphenol oxidase with instant identification by in situ blotting. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 849, 331–336.

Chinajariyawong, A., Tiwonge, E. K., Hallman, G. J., & Clarke, A. R. (2018). Efficacy of gamma radiation for quarantine control of Bactrocera dorsalis (Diptera: Tephritidae) in lychee. Journal of Economic Entomology, 111(2), 887–893.

Chiossi, C. E. (2019). Una mirada a la física atómica. Comisión Nacional de Energía Atómica. Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable. [Acceso 12 octubre 2022]. (https://www.cnea.gob.ar/nuclea/handle/10665/1080)

Cia, P., Benato, E.A., Pascholati, S.F. (2010). Use of irradiation in postharvest disease management: problems and solutions. *Int. J. Rev. Postharvest Biol. Technol*, 4, 1–7.

Codex Alimentarius STAN 106-1983, Rev. 1-2003, General standard for irradiated foods. [Acceso 5 abril 2022]. (http://www.codexalimentarius.net/download/standards/16/CXS 106e.pdf)

Código Alimentario Argentino (CAA), Artículo 174 – Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 13-E/2017. [Actualizado a octubre 2017]. (https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_iii_prod_alimenticiosactualiz_2017-10.pdf)

Código Alimentario Argentino (CAA), Artículo 925 tris – Resolución Conjunta SPReIN° 192/2012 y SAGyP N° 799/2012. [Actualizado a octubre 1019]. (https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo xi vegetales actualiz 2019-10 .pdf)

Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), (2020). Irradiación de Alimentos. [Acceso 10 febrero 2020]. (https://www.argentina.gob.ar/cnea/Tecnologia-nuclear/irradiacion-gamma/irradiacion-de-alimentos)

Cova, M. C. (2021). Curso de posgrado: Irradiación de Alimentos, Tecnologías, aplicaciones y reglamentación. Clase: Preservación de alimentos mediante radiación ionizante. CNEA e Instituto Dan Beninson, Universidad Nacional de San Martín.

Crawford, L. M. & Ruff, E. H. (1996). A review of the safety of cold pasteurization through irradiation, *Food Control*, 7(87).

Cunha, L.C., Berlingieri Durigan, M.F., Martins, R.N., Durigan, J.F. (2007). Caracterização da curva de maturação de pêssegos 'Aurora-1', na região de Jaboticabal - Sp. *Rev. Bras. Frutic.* 29(3), 661-665. Doi: c10.1590/S0100-29452007000300045

D'Ambrosio, C., Arena, S., Rocco, M., Verrillo, F., Novi, G., Viscosi, V., Marra, M., Scaloni, A. (2012). Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *J. Proteomics* 78, 39-57. Doi: 10.1016/j.jprot.2012.11.008.

D'Ambrosio, C., *et al.* (2013). Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *J. Proteomics* 78, 39-57. Doi: 10.1016/j.jprot.2012.11.008.

D'Amour, J., Gosselin, C., Arul, J., Castaigne, F. and Willemot, C. (1993). Gamma-radiation affects cell wall composition of strawberries, *J. Food Sci.* 58:182.

D'innocenzo, M. & Lajolo, F.M. (2007). Effect of gamma irradiation on softening changes and enzyme activities during ripening of papaya fruit. *J. Food Biochem.*, 25, 425–438. https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00750.x.

Damos, P., Sotiraki, S., Vasarmidis, T., & Papanastasiou, S. (2018). Sterilizing Bactrocera oleae (Diptera: Tephritidae) males with X-rays for use in sterile insect technique programs: flight ability, survival, and field cage tests. Journal of Economic Entomology, 111(6), 2705–2710.

Dansa, A. (2017) Perfil del Mercado de Durazno 2017. [Acceso 8 junio 2019]. (https://www.academia.edu/34371621/PERFIL DEL MERCADO DE DURAZNO 2017 NU EVO)

Dansa, A. (2020) Perfil del Mercado de Durazno [Acceso 18 enero 2024]. (https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss mercados agropecuarios/areas/frutas/ archivos/0000

30 Informes/100007 Perfil%20de%20Mercado/000005 Perfil%20del%20Mercado%20de%20 Duranzo%202019-20.pdf

Dauphin, J.F. & Saint-Lèbe, L.R. (1977). Radiation chemistry of carbohydrates. *En: Radiation chemistry of major food components, Cap. 5.* Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.

Day, K., Crisosto, G., Crisosto, C., Watkins, M. (1997). Survey of white flesh nectarines and peaches. *Fruit Var. J.*, 52, 184-189.

De la Vega, J.C., Cañarejo, M.A., Pinto, N.S. (2017). Avances en Tecnología de Atmósferas Controladas y sus Aplicaciones en la Industria. Una Revisión *Información Tecnológica*, 8(3), 75-86. Doi: 10.4067/S0718-07642017000300009.

Delincée, H. (1983). Recent advances in radiation chemistry of proteins. En: *Recent advances in food irradiation*. Elías, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Biomedical Press, Amstedam, 129-148.

Denoya, G. I. (2015). Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la calidad y vida útil de duraznos mínimamente procesados. Aspectos bioquímicos, fisicoquímicos, higiénico-sanitarios, nutricionales y sensoriales. Tesis doctoral desarrollada en ITA-INTA y Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Denoya, G. I., Colletti, A. C., Polenta, G. A. (2020). Vegetales mínimamente procesados: frescos y saludables. Revista Énfasis Alimentación n°10, noviembre 2020, pp. 32–34. (https://es.calameo.com/read/0013939420929b6575af4)

Denoya, G. I., Colletti, A. C., Vaudagna, S. R., Polenta, G. A. (2021). Application of non-thermal technologies as a stress factor to increase the content of health-promoting compounds of minimally processed fruits and vegetables. Current Opinion in Food Science, 42: 224–236. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.06.008

Denoya, G. I., Polenta, G. A., Apóstolo, N. M., Budde, C. O., Sancho, A. M., & Vaudagna, S. R. (2016). Optimization of high hydrostatic pressure processing for the preservation of minimally processed peach pieces. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 84–93.

Di Santo, C., Pagano, E. y Sozzi, G. (2009). Differential expression of a-l-arabinofuranosidase and a-l- arabinofuranosidase/b-d-xylosidase genes during peach growth and ripening. *Plant Physiol. Biochem.* 47, 562-569. Doi: 10.1016/j.plaphy.2009.02.007.

Dionísio, A. P., Gomes, R. T., Oetterer, M. (2009). Ionizing radiation effects on food vitamins: a review. *Braz. arch. biol. technol.*, 52(5), 1267-1278.

Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell Online*, 7, 1085–1097.

Dong, X., He, Y., Yuan, C., Cheng, X., Li, G., Shan, Y., & Zhu, X. (2022). Controlled Atmosphere Improves the Quality, Antioxidant Activity and Phenolic Content of Yellow Peach during the Shelf Life. Antioxidants (Basel, Switzerland), 11(11), 2278. https://doi.org/10.3390/antiox11112278.

Drake, S.R. & Neven, L.G. (1998). Irradiation as an alternative to methyl bromide for quarantine treatment of stone fruits. *J. Food Qual.*, 22, 529–538. https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1998.tb00542.x.

Dunlap, D. y Matsumura, F. (1997). Development of broad spectrum antibodies to heat shock proteins 70s as biomarkers for detection of múltiple stress by pollutants and environmental factors. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 37, 238-244.

Durán-Soria, S., Pott, D.M., Osorio, S., Vallarino, J.G. (2020). Sugar Signaling During Fruit Ripening. *Front Plant Sci*, 11, 564917. doi: 10.3389/fpls.2020.564917.

El-Samahy, SK, Youssef, BM, Askar, AA, Swailam, HMM. (2000). Microbiological and chemical properties of irradiated mango. *J. Food Saf.* 20, 39–156.

European Food Safety Authority (EFSA), (2011). Scientific Opinion on the efficacy and microbiological safety of irradiation of food. *EFSA Journal*, 9(4), 2103. [Acceso 10 marzo 2023]. (https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2103)

Eustice, R. F. (2020). Novel processing technologies. En Genetically Modified and Irradiated Food (pp. 269–286). Elsevier.

Fadón, E., Rodrigo, J. (2018). Unveiling winter dormancy through empirical experiments. *Environ. Exp. Bot.*,152, 28–36.

Fan, X. & Sokorai, K.B.J. (2002). Sensorial and chemical quality of gamma irradiated fresh-cut Iceberg lettuce in modified atmosphere packages. *J. Food Protect.* 65, 1760-1765.

Fan, X. & Sokorai, K.B.J. (2005). Assessment of radiation sensitivity of fresh-cut vegetables using electrolyte leakage measurement. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 191–197.

Fan, X. & Sokorai, K.B.J. (2008). Retention of quality and nutritional value of 13 fresh-cut vegetables treated with low-dose radiation. *Journal of Food Science*, 73(7), S367-S372.

Fan, X. & Wang, W. (2020). Quality of fresh and fresh-cut produce impacted by nonthermal physical technologies intended to enhance microbial safety. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-21.

Fan, X. (2005). Antioxidant capacity of fresh-cut vegetables exposed to ionizing radiation. *J. Sci Food Agric.* 85, 995-1000.

Fan, X. (2013). Irradiation of fresh and fresh-cut fruits and vegetables: quality and shelf life (Chapter 15). En: Food Irradiation Research and Technology. Fan, X. y Sommers, C. (Eds). Blackwell Publishing and the Institute of FoodTechnologists. pp 271-293.

Fan, X., Niemira, B.A. and Sokorai, K. B. J. (2003a). Sensorial, nutritional and microbiological quality of fresh cilantro leaves as influenced by ionizing irradiation and storage. *Food Res. Intl.*, 36, 713-719.

Fan, X., Toivonen, P.M.A., Rajkowski, K.T. and Sokorai, K. B. J. (2003b). Warm water treatment in combination with modified atmosphere packaging reduced undesirable effects or irradiation on the quality of fresh-cut iceberg lettuce. *J. Agric. Food Chem*, 50, 1231-1236.

Fan, Y., Xu, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, J., Sun, L., Zhang, B. (2009). Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (Fragaria ananassa) preservation quality. *Postharvest Biol. Technol.*, 53, 84–90.

Fernandes, A., Pereira, C., Antonio, A.L., and Ferreira, I. C. F. R. *In: Food Irradiation Technologies: Concepts, Applications and Outcomes*, ed. I. C. F. R. Ferreira, A. L. Antonio, and S. Cabo Verde, The Royal Society of Chemistry, 2017, ch. 11, pp. 210-236.

Fernandes, D., & Prakash, A. (2020). Use of gamma irradiation as an intervention treatment to inactivate Escherichia coli O157:H7 in freshly extracted apple juice. Radiation Physics and Chemistry (Oxford, England: 1993), 168(108531), 108531. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108531

Ferrer, A., S. Remón, A. Negueruela y R. Oria. (2005). Changes during the ripening of the very late season Spanish peach cultivar Calanda: Feasibility of using CIELAB coordinates as maturity indices. *Sci. Hortic.* 105(4), 435-446. Doi: 10.1016/j.scienta.2005.02.002.

Finten, G., Garrido, J. I., Cova, M. C., Jagus, R. J. Agüero, M. V. (2017). Safety improvement and quality retention of gamma irradiated spinach leaves. *Journal of Food Safety*, 37(4), e12340.

Flores, P., Hellín, P., Fenoll, J. (2012). Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chem.*, 132, 1049–1054.

Florkowski, W. J., Shewfelt, R. L., Brueckner, B., Prussia, S. E. (2014). Postharvest Handling. A Systems Approach. Chapter 14: Measuring Quality and Maturity. *Third Edition, Elsevier*, USA. 387-390, 395. ISBN: 978-0-12-408137-6.

Food and Agriculture Organization (FAO) & Organización Mundial de la Salud (OMS), (1989). La irradiación de los alimentos. Técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos. Obra publicada por la Organización Mundial de la Salud en colaboración con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Ginebra. ISBN: 92 4 354 240 O.

Food and Agriculture Organization (FAO) & Organización Mundial de la Salud (OMS), (2004). Report of a Joint FAO/WHO Workshop on Fruit and Vegetables for Health, Kobe, Japan. ISBN: 92 4 159281 8.

Food and Agriculture Organization (FAO), (2011). Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention. Rome, 29. ISBN 978-92-5-107205-9. [Acceso 14 marzo 2020]. (http://www.fao.org/3/a-i2697e.pdf)

Frontela, C., López, G., Ros, G., Martínez, C. (2006). Relación entre los parámetros sensoriales, fisicoquímicos e instrumentales en el jamón cocido. Anales de Veterinaria de Murcia, 22(0), 67–78.

Fruk, G., Cmelik, Z., Jemric, T., Hribar, J., Vidrih, R. (2014). Pectin role in woolliness development in peaches and nectarines: A review. *Scientia Horticulturae*, 180, 1-5. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.042

Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.* 13(3), 27-36.

Gebicki, J.M., Nauser, T. (2022). Initiation and Prevention of Biological Damage by Radiation-Generated Protein Radicals. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 396. https://doi.org/10.3390/ijms23010396

Giacalone, G., Chiabrando, V. (2013). Effect of different treatments with calcium salts on sensory quality of fresh-cut apple. *J. Food Nutr.* Res. 52, 79-86.

Gil, M., F. Tomás-Barberán, B. Hess-Pierce y A. Kader. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin c contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agr. Food Chem*, 50(17), 4976-4982. Doi: 10.1021/jf020136b.

González-Buesa, J., Arias, E., Salvador, M. L., Oria, R., & Ferrer-Mairal, A. (2011). Suitability for minimal processing of non-melting clingstone peaches. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(4), 819-826.

Gorny, J.R. (2001). A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. *Postharvest Horticulture Series No. 22^a University of California*, Davis, 95-145.

Graham, H. D. (1980). Safety and wholesomeness of irradiated foods, The Safety of Foods (H.D. Graham, ed.), pp. 546, Avi Publishing, Westport.

Gutiérrez, A., Burgos, J. A., Molto, E. (2007). Pre-commercial sorting line for peaches firmness assessment. *Journal of Food Engineering*, 81, 721–727.

Hasegawa, Y. and Moy J.H. (1973). Reducing oligosaccharides in soybeans by gamma-radiation-controlled germination, *Joint FAO/IAEA Proc. Symp. Rad. Preserv. of Foods*, STI/PUB/317, p. 89.

Heckathorn, S., Downs, C., Sharkey, T y Coleman, J. (1998). The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress. *Plant Physiol.*, 116, 439-444.

Herrera, C., M. Laitón, A. Paredes y G. Sánchez. (2006). Manejo poscosecha en durazno y ciruelo. *En: Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuaria (Corpoica)*. Produmedios, Bogotá.

Hiwasa, K. & Ezura, H. (2014). Part I. Physiology and metabolism. pp 1-99. *In:* Nath, P., M. Bouzayen, J. Pech y A. Mattoo. Fruit ripening: Physiology, signalling and genomics. CABI, London, UK.

Horak, C. (2017). Usos y Aplicaciones de la Irradiación de alimentos en la cadena agroalimentaria. Jornadas de Irradiación, 2017. [Acceso 30 septiembre 2020] http://www.jornadasdeirradiacion.info/jornada-alimentos.html)

Hu, K., Peng, D., Wang, L., Liu, H., Xie, B., Sun. Z. (2021). Effect of mild high hydrostatic pressure treatments on physiological and physicochemical characteristics and carotenoid biosynthesis in postharvest mango. *Postharvest Biol Technol*, 172, 111381.

Hurkman, W. & Tanaka, C. (1986). Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. *Plant Physiol.*, 81, 802–806.

Hussain, P.R., Dar, M.A., Wani, A.M. (2012). Effect of edible coating and gamma irradiation on inhibition of mould growth and quality retention of strawberry during refrigerated storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 2318–2324.

Hussain, P.R., Suradkar, P.P., Wani, A.M., Dar, M.A. (2015). Potential of carboxymethyl cellulose and γ -irradiation to maintain quality and control disease of peach fruit, *Int J Biol Macromol*, 82, 114-126.

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). Censo Nacional Agropecuario 2018: resultados definitivos / 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadística y Censos - INDEC, 2021. ISBN 978-950-896-607-0. (https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/economia/cna2018 resultados definitivos.pdf)

International Atomic Energy Agency (IAEA) & Food and Agriculture Organization (FAO), (1985). Food Irradiation Processing Proceedings of an International Symposium on Food Irradiation Processing Jointly. Washington, 4-8 Marzo 1985.

International Atomic Energy Agency (IAEA), (2007). Food irradiation facilities database. *Food & Environmental Protection Newsletter Suppl.*, 20-22.

International Atomic Energy Agency (IAEA), (2016). The radiation chemistry of polysaccharides. Identifiers: IAEAL 16-01075 | ISBN 978-92-0-101516-7 [Acceso 8 enero 2024]. (https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/P1731 web.pdf)

International Atomic Energy Agency (IAEA), (2017). Manual de Buenas Prácticas para la Irradiación de Alimentos. Colección de Informes Técnicos nº 481. ISBN 978–92–0–306116–2. [Acceso 23 noviembre 2022]. (https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/D481_S_web.pdf)

International Atomic Energy Agency (IAEA), (2022). ¿Qué es la radiación Cherenkov?. Ciencia nuclear en detalle. [Acceso 10 febrero 2023]. (https://www.iaea.org/es/newscenter/news/que-es-la-radiacion-cherenkov)

International Organization for Standardization (ISO) 13299 (2003). Sensory analysis – Methodology – General guidance for establishing a sensory profile.

International Organization for Standardization (ISO) 14470 (2011). Food irradiation — Requirements for the development, validation and routine control of the process of irradiation using ionizing radiation for the treatment of food.

International Organization for Standardization (ISO) 8586 (2012). Sensory analysis: general guide for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assesors.

International Organization for Standardization (ISO) ASTM 51204 (2004). Practice for dosimetry in gamma irradiation facilities for food processing. Practice for the use of the alanine-EPR dosimetry system.

Ionics S.A. (2019). Alimentos más sanos y duraderos – Irradiación gamma. XVII CONGRESO CyTAL (Ciencia y Tecnología de Alimentos) y XXI CONGRESO ALACCTA (Asociación Latinoamericana y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos) 2019. UCA, Buenos Aires, Argentina.

Iturbe García, J.L. & López Muñoz, B.E. (2004). Irradiación de alimentos. *Revista Ciencia Universidad Autónoma del Estado de México*, 53-62.

Jacobo-Velázquez, D. A., Cuéllar-Villarreal, M. R., Welti-Chanes, J., Cisneros-Zevallos, L., Ramos-Parra, P. A., Hernández-Brenes, C. (2017). Nonthermal processing technologies as elicitors to induce the biosynthesis and accumulation of nutraceuticals in plant foods. *Trends Food Sci Technol*, 60, 80–87.

Jacobo-Velázquez, D., Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L. (2021). Designing Next-Generation Functional Food and Beverages: Combining Nonthermal Processing Technologies and Postharvest Abiotic Stresses. *Food Eng. Rev.*, 13, 1–9. https://doi.org/10.1007/s12393-020-09244-x.

Jaiswal, P., & Moon, K. D. (2020). Effect of gamma irradiation on quality of table grape (cv. Superior Seedless) during storage. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 13(2), 596–603.

Jamali, S.N., Kashaninejad, M., Amirabadi, A.A., Aalami, M., Khomeiri, M. (2018). Kinetics of peroxidase inactivation, color and temperature changes during pumpkin (Cucurbita moschata) blanching using infrared heating. *LWT*, 93, 456-462.

Janave, M. T. & Sharma, A. (2005). Extended storage of gamma-irradiated mango at tropical ambient temperature by film wrap packaging. *Journal of Food Science and Technology*, 42 (3), 230-233.

Jankuloski, Z., Marija B., Hristina S., and Ivana S. (2022). Assessment of Public Opinion towards Irradiated Food. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 38, 93–101.

Jeong, S. M., Woo, S. G., Lee, S. K., & Byun, M. W. (2019). Inactivation of pathogenic microorganisms in fresh fruits by gamma irradiation. Food Control, 95, 226–230.

Jesus Filho, M.d., Scolforo, C.Z., Saraiva, S.H., Pinheiro, C.J.G., Silva, P.I., Della Lucia, S.M. (2018). Physicochemical, microbiological and sensory acceptance alterations of strawberries caused by gamma irradiation and storage time. *Sci. Hortic.*, 238, 187–194. CC.

Jia, H-J., A. Araki y G. Okamoto. (2005). Influence of fruit bagging on aroma volatiles and skin coloration of 'Hakuho' peach (*Prunus persica*Batsch). *Postharvest Biol. Technol.* 35, 61-68. Doi: 10.1016/j.postharvbio.2004.06.004.

Jouki, M. & Khazaei, N. (2014). Effect of low-dose gamma radiation and active equilibrium modified atmosphere packaging on shelf life extension of fresh strawberry fruits. *Food Packaging and Shelf Life*. 1, 49–55. 10.1016/j.fpsl.2013.12.001.

Kader, A. & Rolle, Rosa. (2004). The role of post-harvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce. Food and Agriculture Organization of The Unites Nations (*En: FAO Agricultural Services Bulletin 152*), Roma, ISBN 92-5-105137-2, ISSN 1010-1365. [Acceso 12 agosto 2019]. (http://www.fao.org/3/y5431e/y5431e00.htm#Contents)

Kader, A.A. (1986). Potential application of ionizing radiation in postharvest handling of fresh fruit and vegetables, *Food Technol.* 40:117.

Kan, Y., Wu, Y., & Wang, Z. (2019). Effects of gamma irradiation on postharvest quality of mango fruit. Postharvest Biology and Technology, 147, 135–141.

Kelley, K.M., Primrose, R., Crassweller, R., Hayes, J.E., Marini, R. (2016). Consumer peach preferences and purchasing behavior: A mixed methods study. *J Sci Food Agric*, 96, 2451–2461.

Kerstner de Oliveira, F., Oliveira Santos, L., Garda Buffon, J. (2021). Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. *Food Research International*, 143, 110266. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110266.

Key, J., Lin, C., Chen, Y. (1981). Heat shock proteins of higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78(6), 3526-3530.

Khan, Q. et al. (2018). Effect of Gamma Irradiation on Nutrients and Shelf Life of Peach (Prunus Persical) Stored at Ambient Temperature. *The Open Conference Proceedings Journal*, 09, 8-15.

Kheshti, N., Martins Melo, A.A., Baquero Cedeno, A., Obenland, D., Prakash, A. (2019). Physiological response of 'Fuji' apples to irradiation and the effect on quality. *Radiation Physics and Chemistry*, 165, 108389. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108389.

Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3713–3717.

Kim, K.H., Kim, M.S., Kim, H.G., Yook, H.S. (2010). Inactivation of contaminated fungi and antioxidant effects of peach (*Prunus persica* L. Batch ev Dangeumdo) by 0.5-2 kGy gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 79, 495–501.

Kim, M.S., Kim, K. H., Yook, H. S. (2009). The effects of gamma irradiation on the microbiological, physicochemical and sensory quality of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv Dangeumdo). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*, 38, 364-371.

Klein, J. & Lurie, S. (1992). Heat treatments for improved postharvest quality of horticultural crops. *HortTechnology*, 2, 316–320.

Knight, C. y Ackerly, D. (2001). Correlated evolution of chloroplast heat shock protein expression in closely related plant species. *American Journal Botany*, 88(3), 411-418.

Kuun, K., Okole, B. y Bornmann, L. (2001). Protection of phenylpropanoid metabolism by prior heat treatment in Lycopersicon esculentum exposed to Ralstonia solanacearum. *Plant Physiol. Biochem.*, 39, 871-880.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriofage T4. *Nature*, 227, 680–685.

Lafuente, M.T., Belver, A., Guye, M.G., Saltveit, M.E. (1991). Effect of temperature on chilling injury of cucumber cotyledons. *Plant Physiol*, 95, 443–449.

Lampe, J. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 475s-490s.

Lana, M. M., Tijskens, L. M. De Theije, A., Dekker, M., Barrett, D. M. (2007). Measurement of firmness of fresh-cut sliced tomato using puncture tests - studies on sample size, probe size and direction of puncture. *J. Text. Stud.* 38, 601-618.

Langdon, T. (1987). Prevention of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfating agents. *Food Technology*, 41, 64-67.

Latorre, M.E., Narvaiz, P., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N. (2010). Effects of gamma irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet (Beta vulgaris L. var. conditiva) root. *J. Food Eng.*, 98(2), 178–191. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.024.

Lee, G & Vierling, E. (2000). A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 system to reactivate a heat-denatured protein. *Plant Physiol.*, 122, 189-198.

Lee, G., Pokala, N. y Vierling, E. (1995). Structure and in vivo molecular chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from pea. *J. Biol. Chem.*, 270(18), 10432-10438.

Li, M., Li, X., Han, C., Ji, N., Jin, P., Zheng, Y. (2019). UV-C treatment maintains quality and enhances antioxidant capacity of fresh-cut strawberries. *Postharvest Biol Technol*, 156, 110945.

Li, X., Li, M., Ji, N., Jin, P., Zhang, J., Zheng, Y., Zhang, X., Li, F. (2019). Cold plasma treatment induces phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in fresh-cut pitaya (Hylocereus undatus) fruit. *LWT*, 115, 108447.

Libby, W. F. (1968). El Carbono 14: un reloj nuclear para los arqueólogos *El Correo de la UNESCO*: una ventana abierta sobre el mundo. Usos pacíficos del átomo. XXI, 7/8, 22-30, illus. [Acceso 26 junio 2023]. (https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000078306 spa).

Lires, C.M.L., Docters, A., Horak, C.I. (2018). Evaluation of the quality and shelf life of gamma irradiated blueberries by quarantine purposes. *Radiat. Phys. Chem.*, 143, 79–84. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.07.025

Liu, S.Z., Cai, L. and Sun, J.B. (1990). Effect of low-dose radiation on repair of DNA and chromosome damage. *Acta Biol. Hung.*, 41, 149–157.

Loaharanu P. & Murrell D. (1994) A role for irradiation in the control of foodborne parasites. *Trends Food Sci. Nutri.* 5:190.

Loaharanu, P. (1995). Food irradiation: current status and future prospects, *New Methods of Food Preservation* (G.W. Gould, ed.), Blackie Academic and Professional, Glasgow, p. 90.

López Valenzuela, J.A., Valverde Juárez, F.J., Mejía Torres, S.L., López Angulo, G.; Vega García, M.O. (2011). Efecto del almacenamiento en atmósfera controlada sobre la calidad poscosecha y nutricional del tomate. *Revista Chapingo*. Serie horticultura, 17(2), 115-128.

López-Morales, J.A., Martínez, J.A., Caro, M., Erena, M., Skarmeta, A.F. (2021). Climate-Aware and IoT-Enabled Selection of the Most Suitable Stone Fruit Tree Variety. *Sensors*, 21(11): 3867. https://doi.org/10.3390/s21113867.

Lurie, S. (1993). Modified atmosphere storage of peaches and nectarines to reduce storage disorders. *J. Food Quality*, 16, 52-65.

Lurie, S. (1998). Postharvest heat treatments. Postharvest Biol. Technol., 14, 257–269.

Mahto, R. & Das, M. (2013). Effect of gamma irradiation on the physico-chemical and visual properties of mango (Mangifera indica L.), cv. 'Dushehri' and 'Fazli' stored at 20°C. *Postharvest Biol. Technol.*, 86:447-455.

Majidi H., S. Minaei, M. Almassi, Mostofi, Y. (2014). Tomato Quality in Controlled Atmosphere Storage, Modified Atmosphere Packaging and Cold Storage. *J. Food Sci. Technol.*, 51(9), 2155-2161. doi: 10.1007/s13197-012-0721-0.

Maki, H. & Morohashi, J. (2006). Development of polyphenol oxidase activity in the micropylar endosperm of tomato seeds. *J. Plant Physiol.*, 163(1), 1–10.

Manoukis, N. C., Geib, S. M., Wang, X. G., Mckenzie, C. L., & Vargas, R. I. (2021). Achieving market access for Mediterranean fruit fly (Ceratitis capitata) in mangoes by using a systems approach and x-ray irradiation treatment. Journal of Economic Entomology, 114(1), 38–47.

Manríquez, D., El-Sharkawy, I., Flores, F., El-Yahyaoui, F., Regad, F., Bouzayen, M., Latché, A. & Pech, J. (2006). Two highly divergent alcohol dehydrogenases of melon exhibit fruit ripening-specific expression and distinct biochemical characteristics. *Plant molecular biology*, 61 (4-5), 675-685.

Maraei, R.W., Elsawy, K.M. (2017). Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by γ -irradiation. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, 10, 80–87.

Marquardt D. W. (1963). An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, 11, 431–441.

Martínez, V., Nieto, A., Castro, M., Salvatori, D., & Alzamora, S. (2007). Viscoelastic characteristics of Granny Smith apple during glucose osmotic dehydration. *Journal of food engineering*, 83(3), 394–403.

Matei, N., Popescu, A., Munteanu, M., & Lucian Radu, G. (2013). The assessment of Cd, Zn, Pb, Cu and vitamin C in peaches. *U.P.B. Sci. Bull.*, *Series B*, 75(1), 73-79.

Mathew, A., Kudachikar, V.B. and Ravi, R. (2007). Effect of ionizing radiatio and modified atmosphere packaging on shelf-life and quality of tomato stored at low temperatura. *Journal of Food Science and Technology*, 44(6), 633-635.

Matsuda, F., Morino, K., Ano, R., Kuzawa, M., Wakasa, K., & Miyagawa, H. (2005). Metabolic flux analysis of the phenylpropanoid pathway in elicitor-treated potato tuber tissue. *Plant and Cell Physiology*, 46(3), 454–466. https://doi.org/10.1093/pcp/pci042.

Matsuyama, A. & Umeda, K. (1983) Sprout inhibition in tubers and bulbs, *Preservation of Food by Ionizing Radiation*. Vol. III (E.S. Josephson and M. S. Peterson, eds.), CRC Press, Boca Raton.

Maulén, A., J. Obando-Ulloa, G. Barraza, A. Machuca, Á. Peña-Neira, L. Luchsinger y V. Escalona. (2012). Establecimiento de la composición de la atmósfera más adecuada para comercializar duraznos 'Royal Glory' mínimamente procesados en "Cascos". *Rev. Iberoamer. Tecnol. Postcosecha*, 13(2), 181-186.

Maxie, E.C., Sommer, N.F., Carlos, J.M., Henry, L.R. (1966). Effect of gamma radiation on the ripening of Bartlett pears. *Plant Physiol.*, 41, 437-442.

Mazzotta, A. S., & Beuchat, L. R. (2017). Effectiveness of gamma radiation for inactivating Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes in fresh-cut fruits. International Journal of Food Microbiology, 253, 1–8.

McDonald, H., McCulloch, M., Caporaso, F., Winborne, I., Oubichon, M., Rakovski, C., Prakash, A. (2012). Commercial scale irradiation for insect disinfestation preserves peach quality. *Radiat. Phys. Chem.*, 81, 697-704. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.01.018.

McDonald, R., McCollum, T., Baldwin, E. (1998). Heat treatment of mature-green tomatoes: differential effects of ethylene and partial ripening. *J Am Soc Hortic Sci*, 123, 457–462.

Mditshwa, A., Magwaza, L.S., Tesfay, S.Z., Opara, U.L. (2017). Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: a review. *Sci. Hortic.*, 218, 95–104. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024.

Melo, A. A., Olabode, P. N., Michael, B. C. (2018). Causes of irradiation-induced softening in peaches. *Radiation Physics and Chemistry*, 152, 107-113.

Miernyk, J. (1997). The 70 kDa stress-related proteins as molecular chaperones. *TRENDS Plant Sci.*, 2(5), 180-187.

Miller, J. B., Pang, E., & Broomhead, L. (1995). The glycaemic index of foods containing sugars: comparison of foods with naturally-occurring v. added sugars. *British Journal of Nutrition*, 73(04), 613-623.

Ministerio de Agroindustria (2017). Campaña de Promoción de Consumo de Frutas y Verduras [Acceso 20 julio 2019] (https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/cfa/regionales/ archivos/000000 2017/000000 Pa

<u>mpeana/000000_1ra%20Reuni%C3%B3n/000000_Material/000000_Campa%C3%B1a%20de</u> %20Promocion%20del%20Consumo%20de%20Frutas%20y%20Hortalizas.pdf)

Mondito, M.C. & Ferratto, J. (2006). Publicación cuatrimestral de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR, 184. Córdoba, Argentina.

Montero-Calderón, M., Graü, R., Soliva Fortuny, R., & Martín Belloso, O. (2009). Trends in the minimal processing of fresh fruits and vegetables. *Revista de Industria, Distribución y Socioeconomía Hortícola. Fresh Produce Technology, Marketing and Commercialization.*

Moriguchi, T., Ishizawa Y., Sanada, T. (2007). Differences in sugar composition in Prunus persica fruit and the classification by the principal component analysis. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, 59, 307-312. Doi: 10.2503/jjshs.59.307

Mostafavi, H.A., Mirmajlessi, S.M., Fathollahi, H. (2012). The potential of food irradiation: benefits and limitations. *In: Trends in Vital Food and Control Engineering*, 43–64.

Moy, J.H. (1993). Food irradiation-lessons and prospects for world food preservation and trade, *Development of Food Science and Technology in South East Asia* (O.B. Liang, A. Buchanan, and D. Fardiaz, eds.), IPB Press, Bogor, p. 86.

Murano, E.A. (1995). Irradiation of fresh meats, Food Technol., 49:52.

Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.

Narvaiz, P. & Ladomery, L. G. (1999). Estimation of the effect of food irradiation on total dietary vitamin availability as compared with dietary allowances: study for Argentina. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 250-256.

Negut, C.D., Bercu, V., Duliu, O.G. (2012). Defects induced by gamma irradiation in historical pigments. *J. Cult. Herit.*, 13(4), 397–403. https://doi.org/10.1016/j.culher.2012.01.002.

Neves, V.A. and Lourenço, E.J. (1998). Peroxidase from peach fruit: thermal Stability. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 41(2). https://doi.org/10.1590/S1516-89131998000200002.

Nevin, R. (2009). Enzyme structures database. London. [Actualizado mayo 2020]. (https://www.ebi.ac.uk/enzymeportal/search/P33644/enzyme)

Niemira, B.A., Willemot, C., Marcotte, M., Deschenes, L. (2004). Ionizing radiation processing of fruits and fruit products. *Processing Fruits: Science and Technology*, 1, 223-261.

Ojer, M. (2019). Frutales de carozo en la argentina. Situación actual y principales variedades. *Revista de Divulgación Científica Facultad de Ciencias Agrarias*, *UNCuyo Número 10 Año 2019* – ISSN 24226254. [Acceso 18 diciembre 2019]. (http://experticia.fca.uncu.edu.ar/40-panoramas-y-tendencias/169-frutales-de-carozo-en-la-argentina-situacion-actual-y-principales-variedades)

Oke, M., Jacob, J., & Paliyath, G. (2006). Biochemistry of fruit processing. *Food Biochemistry and Food Processing, Second Edition*, 554-568.

Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M., González, L., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M., Munuera, I., Fiszman, S., & Martín-Belloso, O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 57(3), 139-148.

Orazem, P., M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar y M. Hudina. (2013). Changes during the last ripening stage in pomological and biochemical parameters of the 'Redhaven' peach cultivar grafted on different rootstocks. *Sci. Hortic.* 160, 326-334. Doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.016.

Organización Mundial de la Salud (OMS), (1980). Wholesomeness of Irradiated Food: Summaries of Data considered by the Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee on the Wholesomeness of Irradiated Food, EHE/81.24, Geneva, Switzerland, p. 134.

Pace, B., Cefola, M., Renna, F., Attolico, G. (2011). Relationship between visual appearance and browning as evaluated by image analysis and chemical traits in fresh-cut nectarines. *Postharvest Biology and Technology*, 61, 178–183.

Pachado, J. (2020). Tecnologías disponibles en Argentina. Irradiación de productos y subproductos cárnicos bovinos. Seminario IPCVA 23/10/2020. (http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=2235)

Padilla, G., Cartea, M.E., Velasco, P., de Haro, A., Ordás, A. (2007). Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassica rapa. *Phytochemistry*, 68(4), 536–545.

Palekar, M.P., Cabrera-Diaz. E., Kalbasi-Ashtari, A., Maxim, J.E., Miller, R.K., Cisneros-Zevallos, L., Castillo, A. (2004). Effect of electron beam irradiation on the bacterial load and sensorial quality of sliced cantaloupe. *J Food Sci* 69(9), 267-273.

Pandey, V.P., Singh, S., Singh, R., Dwivedi, U.N. (2012). Purification and Characterization of Peroxidase from Papaya (Carica papaya) Fruit. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 167, 367–376. https://doi.org/10.1007/s12010-012-9672-1.

Park, S.H., Lee, S.J., Chung, H.Y., Kim, T.H., Cho, C.K., Yoo, S.Y. and Lee, Y.S. (2000). Inducible heat-shock protein 70 is involved in the radioadaptive response. *Radiat Res*, 153, 318–326.

Parzanese, M. (2017). La irradiación de alimentos en Argentina. [Acceso 30 septiembre 2020]. (http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=76)

Pelissari, F., Andrade-Mahecha, M., Sobral, P., & Menegalli, F. (2013). Optimization of process conditions for the production of films based on the flour from plantain bananas (Musa paradisiaca). *LWT*, 52(1), 1-11.

Perera, N., Gamage, T., Wakeling, L., Gamlath, G., & Versteeg, C. (2010). Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 39-46.

Pieroni V., Ottaviano F.G., Sosa M., Gabilondo J., Budde C., Colletti A., Denoya G., Polenta G., Bustamante C., Muller G., Pachado J., Andres S., Cardinal P., Rodriguez G., Garitta L. (2023). Effects of gamma irradiation on the sensory and metabolic profile of two peach cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(13): 6362-6372. https://doi.org/10.1002/jsfa.12712.

Pohlman, A.J., Wood, O.B. and Mason A.C. (1994). Influence of audiovisuals and food samples on consumer acceptance of food irradiation, *Food Technol.* 48:46.

Polenta, G., Lucangeli, C., Budde, C, González, C.B., Murray, R. (2006). Heat and anaerobic treatments affected physiological and biochemical parameters in tomato fruits, *LWT*, 39(1), 27-34. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.11.003.

Polenta, G.A., Calvete, J.J. and González, C.B. (2007). Isolation and characterization of the main small heat shock proteins induced in tomato pericarp by thermal treatment. *FEBS J.*, 274(24), 6447–6455.

Polenta, G.A., Guidi, S.M., Ambrosi, V., Denoya, G.I. (2020). Comparison of different analytical methods to evaluate the heat shock protein (HSP) response in fruits. Application to tomatoes subjected to stress treatments. *Curr. Res. Nutr. Food Sci.*, 3, 329–338. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.09.002.

Pourebrahimi Y., Fazel M., Akhavan H.R. (2020). Effect of gamma irradiation on the quality characteristics and shelf life of pomegranate arils during refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22 (3), 723 – 735.

Prakash, A. & Ornelas-Paz, J. (2019). Irradiation of Fruits and Vegetables (Eds) Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities (Chapter 17, pp. 563-589), Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813276-0.00017-1

Príncipe F. (2002). Efecto de la radiación gamma sobre algunos parámetros de calidad de la porción H&G de merluza negra (Dissostichus eleginoides). Tesis de postgrado, Universidad Nacional del Sur, Argentina. (http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/1945)

Ramírez, E. & Whitaker, J. (2003). Polyphenol oxidase. En: Whitaker, J., Voragen, A. & Wong D. (Eds.). *Handbook of Food Enzymology. Marcel Dekker Inc.* New York, 509-523.

Ramírez, F. (2007). Cosecha y acondicionamiento de frutas para la comercialización. *En: Memorias Primer Simposio Colombiano sobre Producción, Agroindustria y Comercialización de Frutas Tropicales*. Palmira, Colombia. 136-149.

Rawson, A., Koidis, A., Rai, D. K., Tuohy, M., Brunton, N. (2010). Influence of sous vide and water immersion processing on polyacetylene content and instrumental color of parsnip (Pastinaca sativa) disks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (13), 7740–7747.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free RadicBiol Med*, 26, 1231–1237.

Ré, M., Gonzalez, C., Escobar, M., Sossi, M., Valle, E., Boggio, S. (2017). Small heat shock proteins and the postharvest chilling tolerance of tomato fruit. *Physiol. Plantarum*, 159(2), 148–160. https://doi.org/10.1111/ppl.12491.

Remorini, D., Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Loreti, F., Massai, R., & uidi, L. (2008). Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. *Food Chemistry*, 110(2), 361-367.

Rickman, J., Barrett, D., & Bruhn, C. (2007). Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 930-944.

Rico, D., Martin-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 18, 373–386.

Rodacka, A., Gerszon, J., Puchala, M., Bartosz, G. (2016). Radiation-induced inactivation of enzymes – Molecular mechanism based on inactivation of dehydrogenases. *Radiation Physics and Chemistry*, 128, 112-117. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.05.022.

Rodríguez F. R. (2002). Ingeniería de la Industria Alimentaria, Volumen III. Operaciones de Conservación de Alimentos, Capítulo 2: La irradiación de Alimentos. Editorial Síntesis S.A., Madrid, España. ISBN: 84-7738-939-X, 67 – 85.

Rodríguez-Félix, A., Fortiz Hernández, J., Villegas Ochoa, M.A. (2011). Cambios en enzimas pectolíticas durante la maduración del durazno 'Flordaprince'. *Interciencia*, 36(1), 65-70.

Rogers, L. (2017). Sensory panel management: a practical handbook for recruitment, training and performance. Woodhead Publishing.

Rosati, C., G. Diretto y G. Giuliano. (2009). Biosynthesis and engineering of carotenoids and apocarotenoids in plants: State of the art and future prospects. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 26, 151-174.

Rouissi, T., Mahmoudi, A., Tyagi, R., Brar, S., Prèvost, D., & Surampalli, R. (2013). Optimisation of spray drying by response surface methodology for the production of Sinorhizobium meliloti powder formulation by using starch industry wastewater. *Biosystems engineering*, 114(3), 334-343.

Ruiz-Altisent, M., Lleó, L. y Riquelme F. (2006). Instrumental quality assessment of peaches: fusion of optical and mechanical parameters. *J. Food Eng.* 74, 490-499. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.01.048.

Sabbadini, M. (2019). Frutas Argentinas: Claves para reposicionar la oferta exportable. *Revista Agropost, Consejo de los Profesionales del Agro, Alimentos y Agroindustria (CPIA)*, n° 164 edición Oct-Nov 2019, 22–24.

Sabehat, A., Lurie, S. y Weiss, D. (1998). Expression of small heat-shock proteins at low temperatures. A possible role in protecting against chilling injuries. *Plant Physiol.*, 117, 651-658.

Sabehat, A., Weiss, D., Lurie, S. (1996). The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. *Plant Physiol.*, 110, 531–537.

Saftner, R.A., Abbott, J.A., Bhagwat, A.A., Vinyard, B.T. (2005). Quality measurement of intact and fresh-cut slices of Fuji, Granny Smith, Pink Lady, and GoldRush apples. *J. Food Sci.* 70, S317-S324.

Sahoo, M., Aradwad, P., Panigrahi, C., Kumar, V. and Naik, S.N. (2023). Irradiation of Food. *In:* Novel Technologies in Food Science (eds N. Chhikara, A. Panghal and G. Chaudhary). https://doi.org/10.1002/9781119776376.ch9.

Sanchez-Ballesta, M.T., Zacarias, L., Granelli, A., Lafuente, M.T. (2000). Accumulation of PAL activity as affected by heat-conditioning and low-temperature storage and its relation to chilling sensitivity in mandarin fruits. *J Agric Food Chem*, 48, 2726–2731.

Sanyal, D., Marchello, M., & Schaffner, D. W. (2016). Microbiological quality of irradiated fresh blueberries. Journal of Food Science, 81(8), M2037-2044.

Sapers, G. (1993). Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. *Food Technology*, 68, 75-84.

Schmid, T.E., and Multhoff, G. (2012). Radiation-induced stress proteins - the role of heat shock proteins (HSP) in anti- tumor responses. *Curr. Med. Chem.*, 19(12), 1765–1770.

Secretaría de Agroindustria, (2019). Cadena de Durazno para Industria – Resumen Abril 2019. [Acceso 15 julio 2019]. (http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Cadenas%20de%20Valor%20de%20 Alimentos%20y%20Bebidas/informes/Resumen Cadena Abril 2019 DURAZNO INDUSTRI A.pdf)

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), (2023). De los Tratamientos con Energía Ionizante (Irradiación). Resolución 495/2023 (Boletín Oficial 05/06/2023). [Acceso 6 junio 2023] (https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/287734/20230605)

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), (2024). Registro Nacional Sanitario de Productores Agropecuarios (RENSPA), Sistema Integrado de Gestión del Documento de Tránsito Vegetal (SIG-DTV), Sistema de Gestión de Certificados para Exportación de Productos de Origen Vegetal (CERT-POV) y Sistema de Gestión para de Productos Vegetales de Importación (SIGPV IMPO). Acceso a la Información Pública, Coordinación de Documentación e Información al Ciudadano. [Acceso 18 enero 2024] (https://nube.senasa.gob.ar/s/KfV8PHaTPRSfV4u)

Seta, S. & M. Moyano. (2007). Duraznos para el consumo en fresco en Santa Fe. ¿Cómo definir su momento óptimo de cosecha? Cátedra de Cultivos Intensivos. *Revista Agromensajes* 23(12), 1544-1545.

Shafiur, R. (2007). Handbook of Food Preservation. Part 4 Preservation Using Heat and Energy. 32. Irradiation Preservation of Foods. *Second Edition CRC Press*, (Food science and technology; 167). New York. 761-782. ISBN-13: 978-1-57444-606-7.

Shahbaz, H.M., Ahn, J.J., Akram, K., Kim, H.Y., Park, E.J., Kwon, J.H. (2014). Chemical and sensory quality of fresh pomegranate fruits exposed to gamma radiation as quarantine treatment. *Food Chem.*, 15;145:312-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.052.

Siddiq, M. (2006). Peach and Nectarine. Chapter 27 in Hui, Y. H., Barta, J., Cano, M. P., Gusek, T. W., Sidhu, J. S., & Sinha, N. *Handbook of fruits and fruit processing. Blackwell Publisher Ltd.*, UK, 519-531.

Simic, M. G. (2018). Radiation chemistry of water-soluble food components. In: *Preservation of Food by Ionizing Radiation* (pp. 1–73). CRC Press.

Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

Smith, J., (1993). Antimicrobial preservative-reduced foods en Smith, J. (Ed.). *Technology of reduced additive foods. John Wiley & Sons*, p. 132.

Snedecor, G. & Cochran, W. (1989). Statistical methods (8th Ed.). Iowa State University Press. Ames, Iowa, p. 503.

Sommers, C.H., Delincée, H., Smith, J.S., Marchioni, E. (2013). Toxicological safety of irradiated food. In: Fan, X., Sommers, C.H. (Eds.), Food *Irradiation Research and Technol*, second ed. Wiley-Blackwell Press.

Soto, A., Allona, I., Collada, C., Guevara, M. A., Casado, R., Rodríguez-Cerezo, E., Aragoncillo, C., and Gomez, L. (1999). Heterologous expresión of a plant small heatshock protein enhances Escherischia coli viability under heat and cold stress. *Plant Physiol.*, 120, 521-528.

Spiller, J. (2004). Radiant Cuisine: The Commercial Fate of Food Irradiation in the United States. Technology and Culture, 45(4), 740–763. http://www.jstor.org/stable/40060684.

Stott, D.I. (1989). Immunoblotting and dot blotting. J. Immunological Methods, 119(2): 153–187.

Sumitani, H., Suekane, S., Nakatani, A., Tatsuka, K. (1994). Changes In Composition of Volatile Compounds in High Pressure Treated Peach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3), 785-790.

Sun, J.-h., Chen, J.-y., Kuang, J.-f., Chen, W.-x., Lu, W.-j. (2010). Expression of sHSP genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, 55(2), 91–96. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.09.001.

Sung, Y.Y., Liew, H.J., Ambok Bolong, A.M., Abdul Wahid, M.E., MacRae, T.H. (2014). The induction of Hsp70 synthesis by non-lethal heat shock confers thermotolerance and resistance to lethal ammonia stress in the common carp, Cyprinus carpio (Linn). *Aquac. Res.*, 45(10), 1706–1712. https://doi.org/10.1111/are.12116.

Tabassum J. *et al.* (2023). Effects of gamma-radiation on microbial, nutritional, and functional properties of Katimon mango peels: A combined biochemical and in silico studies. *Heliyon*, 9(11), e21556. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21556.

Taín, Y., García A., Hernández, A. y Pérez, J. (2011). Estudio de la variación del índice de color durante la conservación de la piña variedad Cayena Lisa a temperatura ambiente. *Rev. Cie. Téc. Agr.* 20(4), 12-16.

Tareen, M.; Abbasi, N. & Hafiz, I. (2012). Postharvest application of salicylic acid enhanced antioxidant enzyme activity and maintained quality of peach cv. 'Flordaking' fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 142, 221-228.

Tavakolian, S., Silaghi, A., Angelo, F., Molari, G., Giunchi, A., Guarnieri, A. (2013). Differentiation of post harvest date fruit varieties non-destructively using FT-NIR spectroscopy. *International Journal of Food Science & Technology*. 48(6): 1282-1288. https://doi.org/10.1111/ijfs.12088.

Taylor, M. (2020). Curso de posgrado: Conviviendo con la Radiactividad. IX Escuela de Verano, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Thirumdas, R. & Annapure, U.S. Chapter 7 - Enzyme inactivation in model systems and food matrixes by cold plasma, Editor(s): Daniela Bermudez-Aguirre, Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation, Academic Press, 2020, pp. 229-252, ISBN 9780128149218. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814921-8.00007-4.

Tiwari, U. & Cummins, E. (2013). Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Research International*, 50(2):497-506, ISSN 0963-9969, https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007.

Tobback, P.P. (1977). Radiation chemistry of vitamins. En: *Radiation chemistry of major food componnents*. Cap. 6. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.

Toivonen, P., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 1-14.

Tomac, A., Cova, M. C., Narvaiz, P., Yeannes, M. I. (2015). Texture, color, lipid oxidation and sensory acceptability of gamma-irradiated marinated anchovy fillets. *Radiation Physics and Chemistry*, 106, 337-342. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.08.010.

Trofimova, M., Andreev, I. y Kuznetsov, V. (1999). Calcium is involved in regulation of the synthesis of HSPs in suspensión-cultured sugar beet cells under hyperthermia. *Physiologia Plantarum.*, 105, 67-73.

Tu, M. (2020). Impact of gamma irradiation on post-harvest disorders in 'Bartlett' pears. Master's thesis, Chapman University. https://doi.org/10.36837/chapman.000192.

Ulmann, R.M. (1972). Introducing irradiated foods to the producer and consumer, in: Peaceful uses of atomic energy, Vienna (Austria), IAEA, 1972, 12, 299-308.

United States Department of Agriculture (USDA), National Nutrient Database (2019). Food data central. Peaches, yellow, raw (Sr legacy 169928). [Acceso 9 abril 2021]. (https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169928/nutrients)

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (2020). Methyl Bromide. [Acceso 10 junio 2021]. (https://www.epa.gov/ods-phaseout/methyl-bromide)

Urbain, W.M. (1977). Radiation chemistry of proteins. En: *Radiation chemistry of major food components*, Cap. 4. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.

Urbain, W.M. (1982). Food Irradiation, Academic Press, New York.

Valente, A., Albuquerque, T., Sanches-Silva, A., & Costa, H. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, 44(7), 2237–2242.

Vallejo, F., Tomás-Barberán, F., García-Viguera, C. (2003). Effect of climatic suphur fertilisation conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. *European Food Research and Technology*, 216, 395–401.

Vázquez, A.L., Nuncio, J.N., Cherdchu, P.H., Chambers, E., Carbonell, A.A. (2014). Physicochemical and descriptive sensory characterization of Spanish pomegranates: aptitudes for processing and fresh_consumption. Int. J. Food Sci. Tech., 49, 1663-1672.

Victoria-Escamilla, M.G., Chávez Franco, S.H., Mendoza Rodríguez, Y.Y., Molina Gómez, J.N., Sangerman-Jarquín, D.M. (2013). Diseño, fabricación y evaluación del prototipo de simulación de esfuerzos dinámicos en durazno (Prunus persica). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(6), 933-945.

Vierling, E. (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42, 579–620.

Viñas, M., J. Usall, G. Echeverría, J. Graell, I. Lara y D. Recasens. (2013). Poscosecha de pera, manzana y melocotón. *Mundi-Prensa Libros*, Lérida, España.

Voisine, R., Hombourger, C., Willemot, C., Castaigne, F. and Makhlouf, J. (1993). Effect of high carbon dioxide storage and gamma irradiation on membrane deterioration in cauliflower florets, *Postharv. Biol. Technol.* 2:279.

Vojisavljevic, V., Pirogova, E., Cosic, I. (2010). Review of studies on modulating enzyme activity by low intensity electromagnetic radiation. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. 835-8. doi: 10.1109/IEMBS.2010.5626786.

Volden, J., Bengtsson, G.B., Wicklund, T. (2009). Glucosinolates, l-ascorbic acid, total phenols, anthocyanins, antioxidant capacities and colour in cauliflower (Brassica oleracea L. ssp. botrytis); effects of long-term freezer storage. *Food Chemistry*, 112(4), 967–976.

- Walker, J. (1992). Spectrophotometric determination of enzyme activity: Alcohol Dehydrogenase (ADH). *Biochemical Education*, 20(1), 42–43.
- Wall, M.M. (2015). Phytosanitary irradiation and fresh fruit quality: cultivar and maturity effects. *Stewart Postharvest Rev.*, 11(3), 1–6. http://doi.org/10.2212/spr.2015.3.6.
- Wang, C., & Meng, X. (2016). Effect of 60 Co γ-irradiation on storage quality and cell wall ultrastructure of blueberry fruit during cold storage. Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology, 38, 91–97. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.010
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A. (2004). Role of plant heat-sock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci*, 9, 244–252.
- Wiley, R. (1997). Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Acribia S.A., Zaragoza, España.
- Wiley, R. (2017). Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables (pp. 187-237). Springer, Boston, MA.
- Willemot, C., Marcotte, M. and Deschenes, L. (1996). Ionizing radiation for preservation of fruits, *Processing Fruits: Science and Technology*, Vol. 1 (L.P. Somogyi, H.S. Ramaswamy, and Y.H. Hui, eds.), Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, p. 221.
- Woese, C. (1959). Further studies on the ionizing radiation inactivation of bacterial spores, *J. Bacteriol.* 77:38.
- Wolff, S., Weincke, J.K., Afzal, V., Youngblom, J., Cortes, F. (1989). The adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation: A case of induced chromosomal repair with the induction of specific proteins, in: Baverstock, K.M. and Stather, J.W. (Eds.), Low Dose Radiation: Biological Bases of Risk Assessment. Taylor & Francis, London, pp. 446–454.
- Wong, P.Y.Y., Kitts, D.D. (2001). Factors influencing ultraviolet and electron beam irradiation-induced free radical damage of ascorbic acid. *Food Chem.*, 74, 75–84.
- Wu, B., Quilot, B., Kervella, J., Génard M., Li, S. (2003). Analysis of genotypic variation of sugar and acid contents in peaches and nectarines through the principle component analysis. *Euphytica*, 132, 375-384. Doi: 10.1023/A:1025089809421.
- Wu, F., Zhou, X., Tao, N., & Wu, J. (2018). Effect of gamma irradiation on quality and postharvest physiology of mango (Mangifera indica L. cv. Keitt). Food Chemistry, 239, 1180–1188.
- Xia, Q., Zheng, Y., Liu, Z., Cao, J., Chen, X., Liu, L., Yu, H., Barba, F.J., Pan, D. (2020). Nonthermally driven volatilome evolution of food matrices: The case of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 365-381.
- Xue, Y., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2019). Effects of Gamma Irradiation on Vitamins and Nutrient Components in Food Products: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1203–1211. http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2017.1329526.
- Xue, Z., Li, J., Yu, W., Lu, X., Kou, X. (2016). Effects of nonthermal preservation technologies on antioxidant activity of fruits and vegetables: A review. *Food Sci Technol Int*, 22, 440–458.
- Xuetong, F. (2012). Irradiation of fresh and fresh-cut fruits and vegetables: Quality and shelf life. En Food Irradiation Research and Technology (pp. 271–293). Wiley. https://doi.org/10.1002/9781118422557.ch15
- Yoruk, R., & Marshall, M. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry*, 27(5), 361-422.
- Zeng, J.-k., Li, X., Zhang, J., Ge, H., Yin, X.-r., Chen, K.-s. (2016). Regulation of loquat fruit low temperature response and lignification involves interaction of heat shock factors and genes

associated with lignin biosynthesis. *Plant Cell Environ.*, 39(8), 1780–1789. https://doi.org/10.1111/pce.12741.

Zhao, B., Hu, S., Wang, D., Chen, H., Huang, M. (2020). Inhibitory effect of gamma irradiation on Penicillium digitatum and its application in the preservation of Ponkan fruit. *Sci. Hortic.*, 272, 109598. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109598.

Zheng, X. & Van Huystee R. B. (1992). Peroxidase-regulated elongation of segments from peanut hypocotyls. *Plant Science*, 81(1), 47–56.