

Impacto del ozono gaseoso sobre la evolución de compuestos con actividad antioxidante y desarrollo microbiano de rúcula (*Eruca sativa*) fresca cortada

Effect of gaseous ozone on antioxidant capacity and microbial counts of fresh-cut rocket (*Eruca sativa* Mill.)

Diego Ricardo Gutiérrez^{1,2}

Centro de Investigaciones en Biofísica Aplicada y Alimentos, Argentina

Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina

Maria Laura Lemos L.²

Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina

Silvia del Carmen Rodríguez S.^{1,2*}

Centro de Investigaciones en Biofísica Aplicada y Alimentos, Argentina

Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina

silviadepece@hotmail.com

Recepción: 22 Noviembre 2024

Aprobación: 12 Diciembre 2024

Publicación: 31 Diciembre 2024



Acceso abierto diamante

Resumen

En este trabajo se estudió el impacto de la aplicación de tratamientos con ozono (O_3) gaseoso (2, 5 y 10 mg L⁻¹ - 10 min) sobre la evolución de compuestos con capacidad antioxidante y desarrollo microbiano en hojas de rúcula (*Eruca Sativa* Mill.) cortada, durante la conservación refrigerada. Muestras lavadas con agua potable (sin tratar con O_3) fueron consideradas como control. Se evaluó la evolución del desarrollo microbiano, de los atributos sensoriales (apariencia general, color y olor), de la capacidad antioxidante y de algunos componentes tales como clorofila total, carotenoides totales, ácido ascórbico y fenoles totales, durante el almacenamiento a 5 °C por 12 días. Los tratamientos con O_3 hasta concentraciones de 5 mg L⁻¹, mantuvieron una buena calidad sensorial y no influyeron significativamente en los diferentes parámetros estudiados; asimismo fueron efectivos en reducir significativamente la carga microbiana de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos, enterobacterias, así como de hongos y levaduras en la rúcula cortada hasta los 8 días de almacenamiento. Sería factible la aplicación del tratamiento de 2 mg L⁻¹ de ozono

Notas de autor

^{1,2} Centro de Investigaciones en Biofísica Aplicada y Alimentos (CIBAAL- CONICET-UNSE), Villa El Zanjón, Santiago del Estero, Argentina / Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Argentina.

² Instituto de Ciencia y Tecnología (ICyTA) - Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero (FAyA-UNSE). Av. Belgrano (s) 1912 (CP 4200). Santiago del Estero, Argentina.

^{1,2*} Centro de Investigaciones en Biofísica Aplicada y Alimentos (CIBAAL- CONICET-UNSE), Villa El Zanjón, Santiago del Estero, Argentina / Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Argentina.

* Autora de correspondencia: Silvia del Carmen Rodríguez silviadepece@hotmail.com

gaseoso para la conservación poscosecha de rúcula cortada durante 8 días a 5°C, ya que la concentración de 5 mg L⁻¹ no aportó un efecto adicional en la conservación y calidad microbólica del producto.

Palabras clave: rúcula, ozono, capacidad antioxidante, conservación.

Abstract

In this research work, the impact of the application of treatments with gaseous ozone (O₃) (2, 5 and 10 mg L⁻¹ - 10 min) on the evolution of compounds with antioxidant capacity and microbial development in fresh cut rocket (*Eruca Sativa* Mill.) leaves was studied, during refrigerated storage. Samples washed with water (not treated with O₃) were considered as control. The evolution of microbial development, sensory attributes (general appearance, color and odor), antioxidant capacity and some components such as total chlorophyll, total carotenoids, ascorbic acid and total phenols, during storage at 5 °C for 12 days was evaluated. Treatments with O₃ up to concentrations of 5 mg L⁻¹ maintained good sensory quality and did not significantly influence the different parameters studied, and were also effective in significantly reducing the development of mesophilic and psychrophilic aerobic microorganisms, enterobacterias, as well as fungi and yeasts in cut rocket up to 8 days of storage. It would be feasible to apply the treatment of 2 mg L⁻¹ of gaseous ozone for the postharvest conservation of cut arugula for 8 days at 5 °C, since the concentration of 5 mg L⁻¹ did not provide an additional effect on conservation and quality. microbiology of the product.

Keywords: rocket, ozone, antioxidant capacity, conservation.

INTRODUCCION

Numerosos investigadores sostienen que los vegetales son una fuente alimenticia esencial de micronutrientes, minerales y fitoquímicos, por lo tanto se recomienda su consumo ya sea como frutas y hortalizas frescas enteras o mínimamente procesadas (Moreb et al., 2021). Los vegetales mínimamente procesados (VMP) se definen como cualquier fruta o verdura que ha sido modificada físicamente de su forma original a través de varios procesos, tales como pelado, cortado, rebanado, picado, triturado y lavado para obtener un producto listo para su consumo o uso, que luego se envasa y se almacena en refrigeración (Mendoza et al., 2022). La demanda de estos VMP se debe a sus atributos de calidad, como la frescura, retención de nutrientes vitales, conveniencia y atributos sensoriales junto con la mejora de la vida útil, y además su consumo permite mantener una dieta sana y equilibrada (Bhilwadikar et al., 2019; Troyo, 2019). Sin embargo, debido a que los VMP generalmente se comen crudos sin tratamiento térmico, aumenta el riesgo de contaminación microbiana lo que causa su deterioro, acorta la vida útil y provoca enfermedades transmitidas por los alimentos (Ssemmanda et al., 2018; Wang et al., 2021). Por lo tanto, es necesario adoptar métodos de desinfección de bajo costo que no afecten negativamente la calidad de los mismos.

Durante los últimos años, la desinfección de alimentos utilizando ozono (O_3) fue ganando cada vez más la atención de la industria (Ong et al., 2014, Botondi et al. 2021) debido a que se informó que es eficaz para reducir microorganismos y prolongar la vida útil de varias vegetales de hoja (Gibson et al., 2019; Karaca and Velioglu, 2020; Papachristodoulou et al., 2018). En ese sentido, Vijay Rakesh Reddy et al., (2021) sostienen que el ozono, aplicado en ambas formas (gaseoso o en agua) inactiva eficazmente la mayoría de los patógenos humanos y relacionados con la seguridad alimentaria, tales como *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Brettanomyces*, *Trichophyton*, *Bacillus*, *Adenovirus*, and *Norovirus*. Además, varios factores como la naturaleza de las frutas o verduras, carga inicial del patógeno, las condiciones de incubación, concentración de ozono, método de aplicación (gas/acuoso), la duración de la exposición y la temperatura pueden afectar la eficacia del tratamiento (Pandiselvam et al. 2017, 2019).

El ozono es un agente oxidante fuerte que ha sido aprobado y reconocido generalmente como seguro (GRAS) por la FDA (Food and Drug Administration- EUA), 2001, para su uso en el procesamiento de alimentos como un reemplazo potencial de los agentes a base de cloro (Aslam et al., 2021). El ozono gaseoso tiene la ventaja de producirse in situ con la ayuda de un generador de ozono, lo que elimina las posibilidades de peligro durante el almacenamiento, y el exceso de ozono se descompone rápidamente en oxígeno sin dejar residuos en los alimentos tratados, lo que lo hace atractivo y útil para la industria alimentaria (Agi et al., 2020; Aslam et al., 2021; Karaca y Velioglu, 2014; Gutiérrez et al., 2019; Pandiselvam et al., 2015). Se han realizado diferentes investigaciones sobre el efecto antimicrobiano del ozono y su influencia en la calidad de diferentes productos hortícolas (Botondi et al. 2021), entre ellos se pueden mencionar estudios en espárragos (Pretell-Vásquez et al., 2000), repollo (Liu et al., 2021), lechuga y espinaca (Karaca y Velioglu, 2014, Sarron et al., 2021).

El uso del ozono en la conservación poscosecha de hortalizas está creciendo actualmente, y su correcta aplicación puede retrasar la senescencia y extender la vida útil de cierto tipo de hortalizas tales como brócoli, lechuga y repollo (Aziz y Ding, 2018, Sarron et al., 2021). Además, otros estudios demostraron que el ozono gaseoso puede tener un efecto positivo sobre los cambios en el contenido de componentes antioxidantes, tales como los flavonoides y otros compuestos fenólicos (Gutiérrez et al., 2019). Otros autores también reportaron que en general, la aplicación de ozono no tiene efectos negativos sobre vitamina C y carotenoides en hortalizas mínimamente procesadas, excepto zanahorias en rodajas (Chauhan et al. 2011). Sin embargo, esta acción del ozono depende en gran medida de la concentración y el período de exposición (Vijay Rakesh Reddy et al., 2021).

En ese contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la aplicación de ozono gaseoso sobre el desarrollo microbiano y la evolución de algunos componentes con capacidad antioxidante en hojas de rúcula cortada, durante su conservación refrigerada.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las muestras

La rúcula fue obtenida de un productor de la provincia de Santiago del Estero-Argentina. Las hojas fueron cosechadas y las que presentaban defectos como daños físicos, amarillamiento o deshidratadas fueron descartadas. Posteriormente, las hojas seleccionadas fueron lavadas con agua potable durante 1 min y drenadas sobre una malla de acero inoxidable. Las hojas se cortaron en tiras de 20 mm y luego se lavaron nuevamente con agua potable a 5 °C, durante 2 min. El agua restante de las hojas cortadas se eliminó usando una centrífuga manual y luego se acomodaron en bandejas de polipropileno con 60 g de producto y se aplicaron los siguientes tratamientos con O₃: 2; 5 y 10 mg L⁻¹ durante 10 min. Para realizar los tratamientos con O₃, se utilizó un generador de descarga tipo corona (Generador de Ozono Bio3 Modelo: TDZ-1, Uruguay) con una capacidad de producción de 1 g/h de ozono, usando el aire como fuente de oxígeno, el cual se introdujo en una cámara hermética de 0,12 m³. La concentración de O₃ se midió con un detector portátil de ozono (SKU: GD200-O3, EUA). Posteriormente en forma inmediata, las bandejas fueron recubiertas con film de polipropileno (PP) de 35 µm de espesor y luego selladas. Como control, se almacenaron muestras sin tratar y envasadas con el mismo film. Todos los tratamientos se conservaron por 12 días a 5 °C. Periódicamente se tomaron muestras y se analizaron los siguientes parámetros.

Análisis Sensorial

Se realizó un análisis descriptivo cuantitativo, con un panel entrenado de 12 miembros, evaluándose las muestras en los días 1, 4, 8 y 12 de almacenamiento. Para evaluar la apariencia general se utilizó una escala lineal con 9 puntos de referencia, estableciéndose de la siguiente manera: 9 = excelente, 7 = bueno, 5 = aceptable (límite de aceptabilidad), 3 = malo y 1 = extremadamente malo. En el caso del color y olor, se evaluaron mediante la siguiente escala de 5 puntos, 5 = plena característica del atributo en el producto, 3 = aceptable (límite de aceptabilidad) y 1 = sin característica, como lo indica Gutiérrez et al. (2016).

Análisis microbiológicos

Para determinar cada grupo microbiano (mesófilos, psicrotróficos y enterobacterias, hongos y levaduras), se colocaron 10 g de muestra en una bolsa estéril, y se adicionó 90 mL de agua peptona tamponada estéril y se homogenizó por 2 min en un Stomacher® 80 (MicroBiomaster, EUA). Luego se diluyó 1 mL de esta disolución en 9 mL de agua estéril y así sucesivamente, según las diluciones que fueran necesarias. Para determinar el recuento de mesófilos aeróbicos, se realizó una siembra en profundidad de 1 mL de las diferentes diluciones, cubriendo con el agar de conteo en placa (APC) y se incubaron a 37 °C durante 2 días, y a 7 °C durante 7 días para conteos de psicrófilos aeróbicos. Para el recuento de enterobacterias, se utilizó agar EMB (eosina azul de metileno) y se incubaron a 37 °C durante 2 días; así mismo, para determinar el recuento de hongos y levaduras, se sembró en profundidad la muestra diluida utilizando agar HyL (Britania) y se incubaron a 27 °C durante 7 días.

Los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de tejido fresco (log UFC g⁻¹).

Concentración de clorofila y carotenoides

Para realizar las determinaciones químicas (clorofila total, carotenoides totales, fenoles totales y capacidad antioxidante), se congelaron 10 g de muestra de cada tratamiento por triplicado a -80 °C y se almacenaron hasta que se usaron para realizar las determinaciones en los diferentes tiempos de muestreo y evaluación.

Tanto el contenido de clorofila como de carotenoides se extrajeron de acuerdo con Gutiérrez et al. (2015). Se trituró una muestra de rúcula congelada de 0,4 g utilizando 15 mL de una solución de acetona:agua (80:20, v:v). A continuación, las muestras se centrifugaron durante 15 min a 5000 x g a 4 °C. Su absorbancia se midió a 663,2, 646,8 y 470 nm utilizando un espectrofotómetro UV-visible (Jasco, modelo V-630, Japón). Para determinar los contenidos totales de clorofila y carotenoides se utilizaron las ecuaciones descritas por Lichtenhaller (1987) y los resultados fueron expresados en mg por 100 g de tejido fresco.

Contenido de ácido ascórbico (AA)

El contenido de AA de las muestras se extrajo según lo descrito por Lemos et al. (2022). Inicialmente, se trituraron 8 g de de rúcula de cada muestra en 12 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 6 % (p/v) y la mezcla se dejó reposar en hielo en la oscuridad durante 15 min. Luego, el homogeneizado se centrifugó a 12.000 g a 4 °C durante 20 min y el sobrenadante se utilizó para las mediciones. El contenido de AA se determinó de acuerdo a Kampfenkel et al. (1995) con ligeras modificaciones. La mezcla de reacción contenía 0,2 mL de sobrenadante, 0,8 mL de tampón fosfato 0,2 M (pH 7,4), 1 mL de TCA al 10 % (p/v), 0,8 mL de H₃PO₄ al 42 % (v/v) y 0,8 mL de 2, 2'-dipiridilo disuelto en etanol al 70 % (v/v) y 0,4 mL de FeCl₃ al 3 % (p/v). La mezcla se homogeneizó y se incubó a 42 °C durante 45 min y, finalmente, se midió la absorbancia a 525 nm con un espectrofotómetro UV-Visible (Jasco V-630). Los resultados se expresaron en mg de ácido ascórbico cada 100 g de tejido fresco.

Todas las mediciones se realizaron por triplicado por tratamiento y día de almacenamiento refrigerado.

Preparación de los extractos para fenoles totales y actividad antioxidante

Se tomaron 4 g de muestra congelada y se homogenizó con 20 mL de metanol. Posteriormente el extracto fue trasvasado a frascos color caramelo y se refrigeraron a 5 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se centrifugaron las muestras durante 15 min a 12.000 rpm y se tomó el sobrenadante para realizar las determinaciones de fenoles totales y actividad antioxidante.

Fenoles Totales

Se determinaron de acuerdo a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Se tomaron 500 µL de extracto al que se le añadió 8 mL de agua destilada y 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 3 minutos. Luego se añadió 1 mL de carbonato de sodio y se dejó reaccionar durante 10 min en oscuridad, transcurrido este tiempo, se procedió a medir la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible (Jasco V-630) a 725 nm. La curva de calibración se realizó empleando ácido clorogénico como patrón. Los resultados se informan como mg Eq. Ac. Clorogenico g⁻¹ tej. Fresco.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante total se determinó basado en la evaluación de la capacidad de captación de radicales libres de acuerdo a la metodología de Brand-Williams et al. (1995). La cual consiste en tomar 150 µL del extracto metanólico, adicionándose 2.850 µL de 2,2-difenil-1-picrylhydrazil radical (DPPH) de absorbancia~1,1; la reacción se protegió de la luz durante 3,5 h, ya que se comprobó que durante este tiempo las

mediciones de absorbancia no presentan variación. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 515 nm. La curva de calibración se realizó empleando Trolox como patrón. Los resultados se expresan como mg Eq. Trolox/g de tej. Fresco.

Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos

Los resultados fueron analizados estadísticamente a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) utilizando el software Infostat 2011 (UNC-Argentina). Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Los datos se presentaron como medias \pm DE. Las diferencias significativas se compararon con la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis sensorial

En general, se observó que durante el almacenamiento, todos los tratamientos presentaron una disminución significativa de los atributos de calidad sensorial (Figura 1).

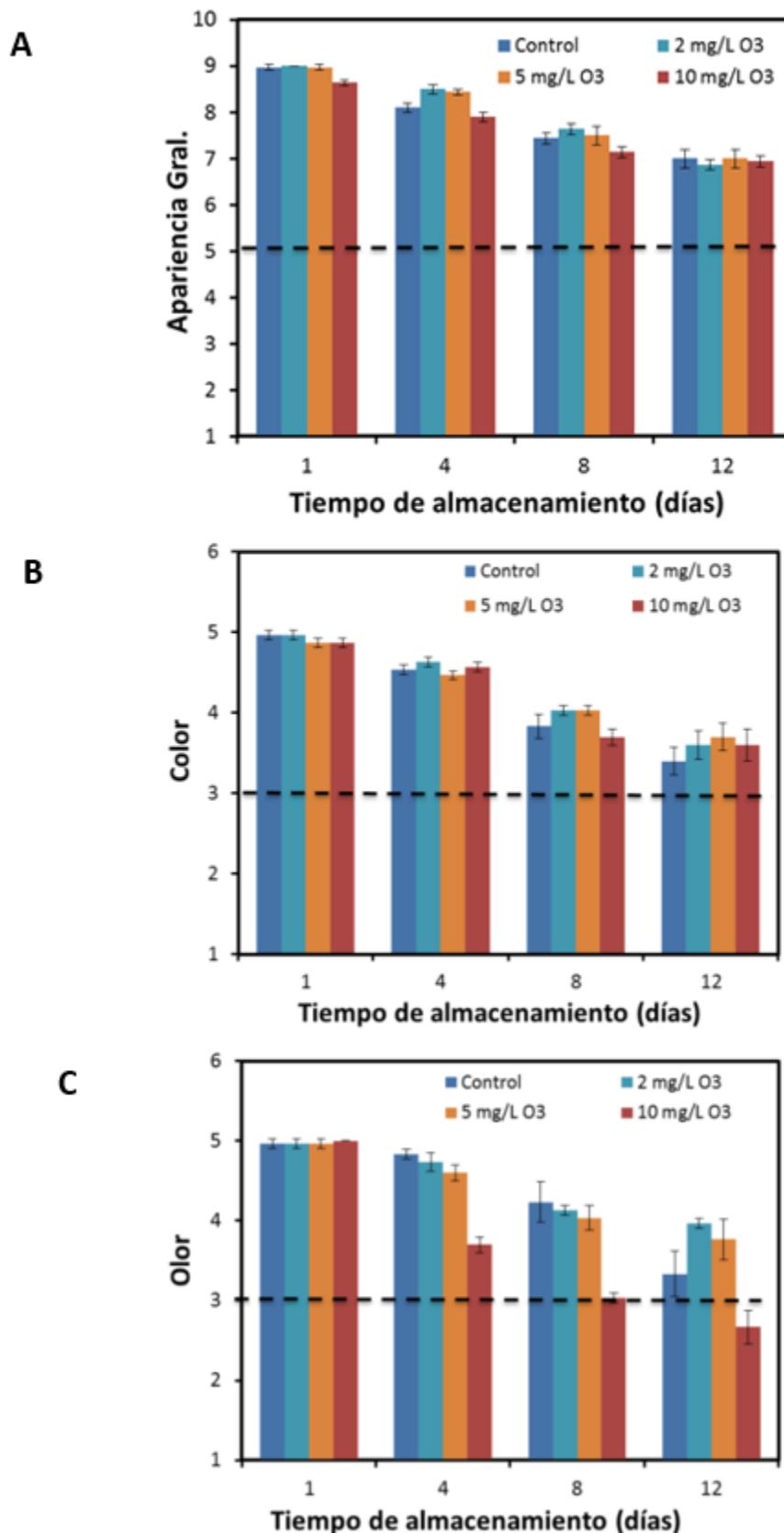


Figura 1

Cambios en los atributos sensoriales (apariencia general, color y olor) en hojas de rúcula cortadas sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O₃ almacenadas durante 12 días a 5 °C. La línea horizontal indica el límite de aceptación por el consumidor.

La apariencia general y el color presentaron valores superiores al límite de aceptación para su comercialización durante los 12 días a 5 °C, sin encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos con O₃ y el control (Fig. 1A y B). Al evaluarse el atributo olor, las muestras tratadas con O₃ registraron los valores más altos al cabo de los 12 días, a excepción de la concentración más alta de 10 mg L⁻¹, ya que al octavo día presentó un valor de aproximadamente 3 (límite establecido) y continuó disminuyendo hasta el final del almacenamiento. Las muestras control presentaron un valor cercano al límite de aceptabilidad a los 12 días a 5 °C. Estos resultados están de acuerdo con Ali et al. (2014), quienes encontraron que frutas de papaya tratadas con diferentes concentraciones de O₃ (2.5 y 3.5 mg L⁻¹) mostraron puntajes altos en los atributos sensoriales después de 12 días de almacenamiento a temperatura ambiente. En este sentido, De Santis et al. (2021) también reportaron que el ozono gaseoso (2,14 µg m⁻³ durante 20 h por día durante 4 días) afectó levemente el perfil sensorial del ajo tratado, así mismo se reportó que en zanahorias tratadas con 1-5 mg L⁻¹ no se registró pérdida de color (De Souza et al., 2018).

De acuerdo a los atributos de calidad sensorial evaluados, los tratamientos con O₃ hasta 5 mg L⁻¹, conservaron estos atributos hasta los 12 días a 5 °C de las hojas de rúcula recién cortadas. Sin embargo, la concentración de 10 mg L⁻¹ O₃ presentó una vida útil inferior a los 8 días.

Análisis microbiológicos

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis sensorial, se seleccionaron las concentraciones de 2 y 5 mg L⁻¹ O₃ para evaluar el efecto sobre la carga microbiana del producto y se comparó también con el lavado tradicional con hipoclorito de sodio (NaClO) usado generalmente en las industrias de vegetales. Para ello, se prepararon muestras lavadas sólo con NaClO (100 ppm; 2 min), de acuerdo con Gutiérrez et al. (2016).

En el recuento de microorganismos mesófilos, se observó que el tratamiento con NaClO indujo una reducción inicial de 0,74 log UFC g⁻¹ con respecto al control, mientras que los tratamientos con 2 y 5 mg L⁻¹ O₃ promovieron una mayor reducción ($p < 0,05$) de 0,98 a 1,03 log UFC g⁻¹, respectivamente, sin encontrarse diferencias significativas entre ambas concentraciones de O₃ (Tabla 1). Para el recuento de psicrófilos, el NaClO produjo una reducción significativa de 0,92 log, mientras que los tratamientos con 2 y 5 mg L⁻¹ O₃ mostraron una mayor reducción de 1,17 y 1,20 log UFC g⁻¹, respectivamente (Tabla 1). Con respecto a las enterobacterias, los tratamientos con 2 y 5 mg L⁻¹ O₃ resultaron ser más efectivos que el NaClO, presentando reducciones significativas de 0,85; 0,95 y 0,62 log UFC g⁻¹ con respecto al control (Tabla 1). El mismo efecto sanitizante se produjo en los recuentos de mohos y levaduras, observándose reducciones de 0,58; 0,85 y 0,87 log UFC g⁻¹ para las muestras tratadas con NaClO, 2 y 5 mg L⁻¹ O₃, respectivamente (Tabla 1). El efecto de reducir el desarrollo microbiano de los tratamientos se observó en todos los recuentos microbianos hasta los 8 días de almacenamiento a 5 °C. Sin embargo, al cabo de los 12 días no se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos estudiados.

Estos resultados coinciden con Olmez y Akbas (2009), quienes encontraron que lechuga tratada con O₃ (2 ppm-2 min) causaron una disminución en los recuentos de mesófilos, psicrotróficos y enterobacterias en aproximadamente 1,5, 1,1 y 1,5 log UFC g⁻¹, respectivamente. También Showkat et al. (2019), informaron

una reducción bacteriana de $6 \log \text{CFU mL}^{-1}$ en kiwi después del tratamiento con ozono ($19,8 \text{ mg mL}^{-1}$) con 60 minutos de exposición. Por otra parte, Horvitz et al. (2014) informaron que la exposición durante tres minutos al ozono gaseoso ($0,7 \text{ mL L}^{-1}$) redujo en pimiento verde el desarrollo de mesófilos, psicrótrofos y poblaciones de hongos de los pimientos recién cortados en 2,5, 3,3 y 1,8 unidades logarítmicas, respectivamente, y fue más efectivo que el tratamiento con ozono aplicado en el agua (1 mL L^{-1}) de desinfección.

Otros autores revisaron extensamente los cambios producidos en la bioquímica de los productos frescos después del tratamiento con ozono e informan que la inactivación microbiana se debe principalmente a cambios en los dobles enlaces de los lípidos de membrana insaturados (Shezi et al., 2020; Vijay Rakesh Reddy et al., 2021; Mendoza et al., 2022).

De acuerdo a estos resultados, las concentraciones con 2 y $5 \text{ mg L}^{-1} \text{ O}_3$ resultaron ser tratamientos más efectivos de desinfección que el NaClO, sin encontrarse diferencias significativas entre las concentraciones. Además, la conservación de la rúcula fresca cortada se vio limitada por el desarrollo de microorganismos psicrófilos, ya que al cabo de los 8 días las muestras analizadas alcanzaron el límite establecido de $7 \log \text{ UFC g}^{-1}$, el cual se adoptó de la legislación española (BOE, 2000) como referencia.

Tabla 1

Cambios en recuentos microbianos (mesófilos, psicrófilos, enterobacterias y mohos levaduras) en hojas de rúcula cortadas sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O₃ almacenadas durante 12 días a 5 °C.

Recuentos microbianos	Tiempo de almacenamiento a 5 °C (días)			
	1	4	8	12
Aerobios mesófilos totales (log UFC g⁻¹)				
Control	4,72 a ^C	5,09 a ^B	5,45 a ^A	5,55 a ^A
NaClO	3,98 b ^D	4,45 b ^C	5,02 b ^B	5,46 a ^A
2 mg/L O ₃	3,74 c ^D	4,24 c ^C	4,77 c ^B	5,42 a ^A
5 mg/L O ₃	3,69 c ^D	4,17 c ^C	4,74 c ^B	5,35 a ^A
Aerobios psicrófilos totales (log UFC g⁻¹)				
Control	6.12 a ^D	6.84 a ^C	7.51 a ^B	8.06 a ^A
NaClO	5.20 b ^D	6.30 b ^C	7.15 b ^B	7.89 a ^A
2 mg/L O ₃	4.95 c ^D	6.05 c ^C	7.11 b ^B	7.70 b ^A
5 mg/L O ₃	4.92 c ^D	6.08 c ^C	7.13 b ^B	7.75 b ^A
Enterobacterias (log UFC g⁻¹)				
Control	4,12 a ^C	4,38 a ^B	4,97 a ^A	5,22 a ^A
NaClO	3,50 b ^D	3,96 b ^C	4,56 b ^B	5,10 a ^A
2 mg/L O ₃	3,27 c ^D	3,81 c ^C	4,27 c ^B	5,04 a ^A
5 mg/L O ₃	3,17 c ^D	3,79 c ^C	4,29 c ^B	5,01 a ^A
Mohos y levaduras (log UFC g⁻¹)				
Control	4,49 a ^D	4,92 a ^C	5,54 a ^B	5,91 a ^A
NaClO	3,91 b ^D	4,49 b ^C	5,23 b ^B	5,76 a ^A
2 mg/L O ₃	3,64 c ^D	4,29 c ^C	4,97 c ^B	5,69 a ^A
5 mg/L O ₃	3,62 c ^D	4,27 c ^C	4,95 c ^B	5,66 a ^A

Nota Diferente letra mayúscula entre cada fila denota una diferencia significativa ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas dentro de cada columna denota una diferencia significativa ($p < 0,05$).

Concentración de clorofila y carotenoides

En cuanto a la concentración inicial de clorofila total, se observó que todos los tratamientos presentaron valores similares ($P > 0,05$) en un rango entre 92,0 y 95,6 mg/100 g tejido fresco (Tabla 2). Posteriormente, la tendencia general fue de una disminución hasta los 8 días (5-14 %) y luego se mantuvo constante para todos los

tratamientos durante la conservación. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras tratadas y el control al cabo de los 12 días a 5 °C.

Al evaluar el contenido de carotenoides, inicialmente no se registraron diferencias entre las muestras ozonizadas y el control, presentando valores en un rango de 20,7-24,3 mg 100 g⁻¹ tej. fresco (Tabla 2). Durante el almacenamiento, se observó que este parámetro presentó una evolución similar al de la clorofila, es decir una disminución en general hasta los 8 días (con excepción del tratamiento con 2 mg L⁻¹ que no presentó variaciones significativas) y luego se mantuvo sin modificaciones ($p > 0,05$) hasta los 12 días. No se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos al final de la conservación a 5 °C. Estos datos están de acuerdo con lo reportado por Karaca y Velioglu (2014) quienes encontraron que la exposición al ozono gaseoso (0,95 ppm, 20 min) no causó cambios significativos en el contenido de clorofila en perejil ($p > 0,05$). Sin embargo, otros autores informaron que tratamientos con ozono causaron decoloraciones en lechuga (Olmez y Akbas, 2009) y espinacas (Klockow y Keener 2009) asociadas con una disminución del contenido de clorofila total.

Contenido de ácido ascórbico

Se observó que inicialmente los diferentes tratamientos con ozono no afectaron el contenido de AA, presentando valores similares al control (43,9 mg ácido ascórbico 100 g⁻¹ tej. fresco). Luego el contenido de AA disminuyó significativamente tanto en el control como en las muestras tratadas con O₃ durante el almacenamiento a 5 °C. Sin embargo, al final de la conservación, todos los tratamientos presentaron reducciones de aproximadamente 70 % con respecto a los valores iniciales, sin encontrarse diferencias significativas entre ellos (Tabla 2). En ese sentido, Ummat et al. (2018) reportaron que en estudios llevados a cabo con pimientos verdes la aplicación de 2.4 mg L⁻¹ O₃ durante 5 min retuvo el contenido de AA. Así mismo, nuestros resultados están de acuerdo con lo reportado por Karaca y Velioglu (2020), quienes observaron disminuciones entre el 73 y 88 % en el contenido de AA en hojas de perejil tratadas con ozono acuoso (12 mg L⁻¹) al final del almacenamiento (15 días). Estos autores reportaron que esta disminución se debería a la alteración de la integridad de los tejidos de la planta, lo que resultó en el contacto del ácido ascórbico con las enzimas degradantes.

Contenido de fenoles totales

El contenido fenólico total inicial fue similar para todos los tratamientos encontrándose en un rango entre 2,2 - 2,3 mg Eq. Ac. Clorogenico g⁻¹ tej. fresco. Todos los tratamientos se mantuvieron en esos niveles durante los 12 días del almacenamiento a 5 °C, sin encontrarse diferencias significativas entre el control y las muestras ozonizadas (Tabla 2). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Keutgen y Pawelzik (2008) quienes reportaron que la aplicación de un tratamiento con ozono (0,16 ppb por 2 meses) no causó ningún cambio significativo en el contenido de fenoles en frutillas.

Tabla 2

Cambios en características químicas (fenoles totales, capacidad antioxidante, clorofila total y carotenoides totales) en hojas de rúcula cortadas sin tratar y tratadas con diferentes concentraciones de O₃ almacenadas hasta 12 días a 5 °C.

Parametros/concentracion O ₃	Tiempo de almacenamiento a 5 °C			
	Día 1	Día 4	Día 8	Día 12
Clorofila total (mg/100 g tej. fresco)				
Control	95,6 a ^A	88,2 a ^{AB}	83,3 a ^B	86,0 a ^B
2 mg/L O ₃	93,0 a ^A	83,1 a ^B	82,9 a ^B	86,9 a ^{AB}
5 mg/L O ₃	92,0 a ^A	87,1 a ^{AB}	80,9 a ^B	81,0 a ^B
Carotenoides totales (mg 100 g⁻¹ Tej. fresco)				
Control	24,3 a ^A	20,5 a ^{AB}	17,8 a ^{BC}	16,9 a ^C
2 mg/L O ₃	20,7 a ^A	18,7 a ^A	18,4 a ^A	18,2 a ^A
5 mg/L O ₃	21,2 a ^B	20,8 a ^{AB}	17,7 a ^C	18,5 a ^C
Ácido ascórbico (mg/100 g tej. fresco)				
Control	43,9 a ^A	28,1 a ^B	19,6 a ^C	13,5 a ^D
2 mg/L O ₃	41,8 a ^A	27,9 a ^B	19,9 a ^C	12,2 a ^D
5 mg/L O ₃	41,9 a ^A	27,5 a ^B	19,0 a ^C	11,5 a ^D
Fenoles totales (mg Eq. Ac. Clorog./ g tej. fresco)				
Control	2,2 a ^A	2,1 a ^A	2,1 a ^A	2,1 a ^A
2 mg/L O ₃	2,2 a ^A	2,1 a ^A	2,1 a ^A	2,1 a ^A
5 mg/L O ₃	2,2 a ^A	2,2 a ^A	2,1 a ^A	2,1 a ^A
Capacidad antioxidante (mg Eq. Trolox/ g tej. fresco)				
Control	2,9 a ^A	2,8 a ^A	2,7 a ^A	2,8 a ^A
2 mg/L O ₃	2,9 a ^A	2,9 a ^A	2,8 a ^A	2,8 a ^A
5 mg/L O ₃	3,0 a ^A	2,9 a ^A	2,8 a ^A	2,8 a ^A

Nota Diferente letra mayúscula entre cada fila denota una diferencia significativa ($p<0,05$). Diferentes letras minúsculas dentro de cada columna denota una diferencia significativa ($p <0,05$).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante inicial en todos los tratamientos fue similar, y estuvo comprendida entre 2,9 y 3,0 mg Eq. Trolox/g de tej. fresco. Como se observó para el contenido de fenoles totales, no se detectaron variaciones significativas a lo largo de la conservación a 5 °C, y no hubo diferencias significativas entre el control y las muestras tratadas con las diferentes concentraciones de ozono (Tabla 2). Los resultados del presente trabajo con ozono concuerdan con los obtenidos por Tzortzakis et al. (2007) quienes reportaron que los tratamientos con O₃ (1 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) en tomate, no provocaron cambios en la actividad antioxidante del mismo durante 6 días. En contraste a estos resultados, Karaca and Velioglu (2020) y Beltrán et al. (2005)

informaron una reducción de los niveles de fenoles y capacidad antioxidante durante el almacenamiento en hojas de perejil y lechuga recién cortada tratadas con ozono, respectivamente.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede afirmar que el tratamiento con O₃ gaseoso es una tecnología de gran potencial para la descontaminación de hojas de rúcula cortada mínimamente procesada. Si bien sería factible la aplicación de un tratamiento de 5 mg L⁻¹ de ozono - 10 min, éste no aportó un efecto adicional en la conservación y seguridad microbiológica del producto. Por lo tanto, el tratamiento con 2 mg L⁻¹ - 10 min, se podría recomendar para incluir en el proceso de elaboración de poscosecha de rúcula cortada, ya que este tratamiento mantuvo una buena calidad sensorial, no influyó significativamente en los diferentes parámetros estudiados y permitió retardar el desarrollo microbiano hasta 8 días de almacenamiento a 5 °C.

Referencias

- Agi, V. N., Aleru, C. P., Agba, P. C. (2020). Studies on microbial contamination of cut and exposed onions. *Journal of Advances in Microbiology*, 1–11.
- Ali, A., Ong, M.K., Forney, C.F. (2014). Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chem.* 142: 19–26.
- Aslam, R., Alam, M. S., Singh, S., Kumar, S. (2021). Aqueous ozone sanitization of whole peeled onion: Process optimization and evaluation of keeping quality during refrigerated storage. *LWT*, 151, 112183.
- Aziz, K., Ding, P. (2018). Ozone application in fresh fruits and vegetables. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, 4(2): 29-35.
- Beltrán, D., Selma, M. V., Marin, A., Gil, M. I. (2005). Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 53: 5654–5663.
- Bhilwadikar, T., Pounraj, S., Manivannan, S., Rastogi, N. K., Negi, P. S. (2019). Decontamination of microorganisms and pesticides from fresh fruits and vegetables: a comprehensive review from common household processes to modern techniques. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(4), 1003-1038.
- BOE. (2000). Normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. Real Decreto, 3484/2000, 1435–1441.
- Botondi, R., Barone, M., Grasso, C. (2021). A Review into the Effectiveness of Ozone Technology for Improving the Safety and Preserving the Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *Foods* 2021, 10, 748. <https://doi.org/10.3390/foods10040748>.
- Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food sci Technol.* 2825-30.
- De Santis, D., Garzoli, S., Vettraino, A. M. (2021). Effect of gaseous ozone treatment on the aroma and clove rot by *Fusarium proliferatum* during garlic postharvest storage. *Heliyon*, 7(4), e06634.
- De Souza, L. P., Faroni, L. R. D. A., Heleno, F. F.; Cecon, P. R., Gonçalves, T. D. C., da Silva, G. J., Prates, L. H. F. (2018). Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *LWT* 2018, 90, 53–60.
- Gibson, K. E., Almeida, G., Jones, S. L., Wright, K., Lee, J. A. (2019). Inactivation of bacteria on fresh produce by batch was ozone sanitation. *Food Control*, 106(106747).
- Gutiérrez, D. R., Char, C., Escalona, V. H., Chaves, A. R., Rodríguez, S. D. C. (2015). Application of UV-C radiation in the conservation of minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill.). *J Food Proc Preservat.* 39: 3117-3127.
- Gutiérrez, D. R., Chaves, A. R., Rodriguez, S. D. C. (2016). Use of UV-C and gaseous ozone as sanitizing agents for keeping the quality of fresh- cut rocket (*Eruca sativa* Mill.). *J. Food Process. Preserv.* 00, 1-13.
- Gutiérrez, D. R., Rodríguez, S. D. C. (2019). Combined Effect of UV-C and Ozone on Bioactive Compounds and Microbiological Quality of Fresh-Cut Rocket Leaves. *American J. Food Sci. Technol.*, 7(3): 71-78.
- Horvitz, S.; Cantalejo, M.J. (2014). Application of Ozone for the Postharvest Treatment of Fruits and Vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2014, 54, 312–339.
- Karaca, H., Velioglu, Y. S. (2014). Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach and parsley. *Postharvest Biol. Technol.*, 88: 46-53.
- Karaca, H., Velioglu, Y. S. (2020). Effects of ozone and chlorine washes and subsequent cold storage on microbiological quality and shelf life of fresh parsley leaves. *LWT*, 127, 109421.

- Keutgen, A. J., Pawelzik, E. (2008). Influence of preharvest ozone exposure on quality of strawberry fruit under simulated retail conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 10-18.
- Klockow, P. A., Keener, K. M. (2009). Safety and quality assessment of packaged spinach treated with a novel ozone-generation system. *Food Sci. Technol.* 42: 1047–1053.
- Lemos, M. L., Gutiérrez, D. R., Farias, M., Rodríguez, S. D. C. (2022). Effect of UV-C treatments on quality and browning-related enzyme activity of fresh-cut eggplant (*Solanum melongena* L.) during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation.* <https://doi.org/10.1111/jfpp.16986>.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology.* 148: 350-382.
- Mendoza, I. C., Luna, E. O., Pozo, M. D., Vásquez, M. V., Montoya, D. C., Moran, G. C., León, J. C. (2022). Conventional and non-conventional disinfection methods to prevent microbial contamination in minimally processed fruits and vegetables. *LWT*, 113714.
- Moreb, N. A., Albandary, A., Jaiswal, S., Jaiswal, A. K. (2021). Fruits and vegetables in the management of underlying conditions for COVID-19 high-risk groups. *Foods*, 10(2), 389.
- Olmez H., Akbas, M. Y. (2009). Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. *J. Food Engineering*, 90: 487-494.
- Ong, M. K., Ali, A., Alderson, P. G., Forney, C. F. (2014). Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defense related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. *Sci. Horticulturae*, 179: 163-169.
- Pandiselvam, R., Thirupathi, V., Meenatchi, R. (2015). Decay rate kinetics of ozone gas in rice grains. *Ozone: Science & Engineering*, 37(5), 450–455.
- Pandiselvam, R., Sunoj, S., Manikantan, M. R., Kothakota, A., Hebbar, K. B. (2017). “Application and Kinetics of Ozone in Food Preservation.” *Ozone: Science & Engineering* 39 (2): 115–26. doi:10.1080/01919512.2016.1268947.
- Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu Priya, E. P., Kothakota, A., Ramesh, S. V., Shahir, S. (2019). “Ozone Based Food Preservation: A Promising Green Technology for Enhanced Food Safety.” *Ozone:Science & Engineering* 41 (1) 17-34. Doi: 01919512.2018.1490636.
- Papachristodoulou, M., Koukounaras, A., Siomos, A. S., Liakou, A., Gerasopoulos, D. (2018). The effects of ozonated water on the microbial counts and the shelf life attributes of fresh-cut spinach. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13404.
- Pretell-Vásquez, C., Márquez-Villacorta, L., Siche, R., Hayayumi-Valdivia, M. (2020). Efecto del ozono y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas de espárrago verde (*Asparagus officinalis* L.) mínimamente procesado. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1506.
- Sarron, E., Gadonna-Widehem, P., Aussenac, T. (2021). Ozone Treatments for Preserving Fresh Vegetables Quality: A Critical Review. *Foods* 2021, 10, 605. [https://doi.org/10.3390/ foods10030605](https://doi.org/10.3390/foods10030605).
- Shezi, S., Samukelo Magwaza, L., Mditchwa, A., Zeray Tesfay, S. (2020). Changes in biochemistry of fresh produce in response to ozone postharvest treatment. *Scientia Horticulturae*, 269, 109397.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods in enzymology.* 299:152-153.
- Showkat, A. L., Sathya, R., Davoodbasha, M. A., Srinivasan, H., Sangyul, L. (2019). An investigation on the sterilization of berry fruit using ozone: An option to preservation and long-term storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20.

- Ssemanda, J. N., Joosten, H., Bagabe, M. C., Zwietering, M. H., Reij, M. W. (2018). Reduction of microbial counts during kitchen scale washing and sanitization of salad vegetables, *Food Control* 85 495–503.
- Troyo, R. (2019). Effects of calcium ascorbate and calcium lactate on quality of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 3(1), 143-150.
- Tzortzakis, N., Borland, A., Singleton, I., Barnes, J. (2007). Impact of atmospheric ozone-enrichment on quality-related attributes of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 317-325.
- Vijay Rakesh Reddy, S., Sudhakar Rao, D. V., Sharma, R.R., Preethi, P., Pandiselvam, R. (2021). Role of Ozone in Post-Harvest Disinfection and Processing of Horticultural Crops: A Review, *Ozone: Science & Engineering*, DOI: 10.1080/01919512.2021.1994367.
- Wang, J., Zhang, Y., Yu, Y., Wu, Z., & Wang, H. (2021). Combination of ozone and ultrasonic-assisted aerosolization sanitizer as a sanitizing process to disinfect fresh-cut lettuce. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105622.

Información adicional

redalyc-journal-id: 813

**Disponible en:**

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81381932008>

Cómo citar el artículo

Número completo

Más información del artículo

Página de la revista en redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de revistas científicas de Acceso Abierto diamante
Infraestructura abierta no comercial propiedad de la
academia

Diego Ricardo Gutiérrez, María Laura Lemos L.,
Silvia del Carmen Rodríguez S.

**Impacto del ozono gaseoso sobre la evolución de compuestos con actividad antioxidante y desarrollo microbiano de rúcula (*Eruca sativa*) fresca cortada
Effect of gaseous ozone on antioxidant capacity and microbial counts of fresh-cut rocket (*Eruca sativa* Mill.)**

Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha
vol. 25, núm. 2, p. 186 - 198, 2024
Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C.,
México
rebasa@hmo.megared.net.mx

ISSN: 1665-0204