

## Efecto de las atmósferas modificadas activas con gases no convencionales sobre la inhibición de *E. coli* inoculados en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*)

Effect of active atmosphere modified with unconventional gases on the inhibition of *E. coli* in rucula (*Eruca vesicaria*) leaves

<sup>1</sup>Ives J. Yoplac Tafur<sup>a</sup>, <sup>2</sup>Cielo Char Aubry<sup>b</sup>, <sup>1</sup>Andrea Hinojosa<sup>c</sup>, <sup>3</sup>Víctor H. Escalona Contrera<sup>c</sup>.

### RESUMEN

Evalúa el efecto de gases no convencionales como el argón (Ar), helio (He), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), altas concentraciones de O<sub>2</sub> y aire, sobre el crecimiento microbiológico en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*) MPF inoculadas con *Escherichia coli*. Después de desinfectar con hipoclorito de sodio (95 mg·L<sup>-1</sup>, pH 6,5) y enjuagar con agua estéril, las hojas se inocularon con *E. coli* (6,5 log UFC·g<sup>-1</sup>) y se envasaron en diferentes ambientes enriquecidos con Ar (53% Ar + 41% O<sub>2</sub> + 6% N<sub>2</sub>); He (53% He + 42% O<sub>2</sub> + 5% N<sub>2</sub>); N<sub>2</sub>O (53% N<sub>2</sub>O + 42% O<sub>2</sub> + 5% N<sub>2</sub>), O<sub>2</sub> (80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>) más un testigo envasado en aire (21% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>), y se almacenaron a 5 °C durante 10 días. Las concentraciones de gases al interior de las bolsas, *E. coli* y enterobacterias se determinaron periódicamente. La composición del gas al interior de las bolsas cambió durante el almacenamiento debido principalmente a la respiración de las hojas de rúcula. La concentración de O<sub>2</sub> disminuyó desde 40% a 20-26% en las atmósferas enriquecidas con Ar, He y N<sub>2</sub>O, y de 80 a 58% en el tratamiento con O<sub>2</sub>. Las concentraciones de CO<sub>2</sub> aumentaron en todas las bolsas aproximadamente a 20-23%, salvo en He que alcanzó el 10%. Las atmósferas con Ar y He fueron las más efectivas para disminuir el recuento de *E. coli* (<5,0 log UFC·g<sup>-1</sup>) y enterobacterias (<7,0 log UFC·g<sup>-1</sup>) después de 10 días. Los gases no convencionales Ar y He redujeron el crecimiento microbiano en hojas de rúcula.

**Palabras clave:** Seguridad alimentaria, *Eruca vesicaria*, argón, helio, óxido nitroso, enterobacterias.

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of novel gases such as argon (Ar), helium (He), nitrous oxide (N<sub>2</sub>O), O<sub>2</sub> and air, on arugula leaves (*Eruca vesicaria*) inoculated with *Escherichia coli*. The samples were disinfected with sodium hypochlorite (95 mg·L<sup>-1</sup>, pH 6.5) and rinsed with sterile water; the leaves were inoculated with *E. coli* (6,5 log CFU·g<sup>-1</sup>) and packed in different atmospheres enriched with Ar (53% Ar + 41% O<sub>2</sub> + 6% N<sub>2</sub>); He (53% He + 42% O<sub>2</sub> + 5% N<sub>2</sub>); N<sub>2</sub>O (53% N<sub>2</sub>O + 42% O<sub>2</sub> + 5% N<sub>2</sub>), O<sub>2</sub> (80% O<sub>2</sub> + 20% N<sub>2</sub>) plus a control packed with air (21% O<sub>2</sub> + 80% N<sub>2</sub>) and stored at 5 °C for 10 days. The gas concentrations inside the bags, and *E. coli* and *Enterobacteriaceae* levels were periodically determined. The headspace gas composition inside the bags during storage changed mainly due to the respiration of the arugula leaves. The concentration of O<sub>2</sub> decreased from 40% to 20-26% in the Ar, He and N<sub>2</sub>O enriched atmospheres, and from 80 to 58% in the O<sub>2</sub> atmosphere treatment. The concentration of CO<sub>2</sub> levels increased in all bags approximately to 20-23%, except in the bags with He which reached 10%. The Ar and He atmospheres were the most effective in reducing the count of *E. coli* (<5.0 log CFU·g<sup>-1</sup>) and *Enterobacteriaceae* (<7.0 log CFU·g<sup>-1</sup>) after 10 days. Novel gases Ar and He had the greatest reduction in microbial growth on arugula leaves.

**Keywords:** Food safety, *Eruca vesicaria*, argon, helium, nitrous oxide, *Enterobacteriaceae*.

<sup>1</sup>Centro de Estudios Postcosechas. Universidad de Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Agroindustria y Enología. Universidad de Chile.

<sup>3</sup>Departamento de Producción Agrícola. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile

<sup>a</sup> Ingeniero Agroindustrial.

<sup>b</sup> Bioquímica

<sup>c</sup> Ingeniero Agrónomo.

## INTRODUCCIÓN

En estos últimos años la industria de las hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF) ha tenido una mayor tasa de crecimiento en respuesta a una mayor demanda por los consumidores. Sin embargo uno de los grandes desafíos que enfrenta esta industria, es el rápido deterioro de la calidad y la reducción de la vida útil de estos productos debido principalmente a los desórdenes fisiológicos, deterioro por microorganismos, desarrollo de malos olores, decoloración, y el ablandamiento de tejidos (Allende *et al.*, 2004; Kader, 2002).

Una de las tecnologías para mantener la calidad y prolongar la vida útil de las hortalizas MPF es el envasado en atmósfera modificada activa (EAMA). Existen diferentes investigaciones donde se ha estudiado la aplicación de esta tecnología; entre las que se pueden citar estudios con altas concentraciones de O<sub>2</sub> (>70%) utilizados en lechuga mantequilla y espinaca en tiras (Escalona *et al.*, 2007; Allende *et al.*, 2004); atmósferas modificadas con helio (He), argón (Ar), nitrógeno (N<sub>2</sub>) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) utilizados en brócoli, lechuga y mizuna (Jamie y Saltveit, 2002; Robles *et al.*, 2010).

En estudios realizados en hortalizas de hojas MPF, con altas concentraciones de O<sub>2</sub> (>70%) combinado con concentraciones altas de CO<sub>2</sub> (10 y 20%) se obtuvo una reducción significativa en el recuento bacteriano, en relación a las muestras con altas concentraciones de O<sub>2</sub> combinadas con <5% de CO<sub>2</sub> y muestras en aire (Artés y Allende, 2005; Allende *et al.*, 2004). Sin embargo, altas concentraciones de O<sub>2</sub> pueden causar un impacto negativo en la fisiología postcosecha y la calidad de estas hortalizas (Kader y Ben-Yehoshua, 2000).

Estudios realizados en hojas de espinacas en tiras con Ar/O<sub>2</sub> (80/20 y 100/0) y una muestra testigo (aire), demuestran que las hojas con Ar+O<sub>2</sub> y aire no mostraron una reducción de la actividad de enzimas (ACC oxidasa), en relación a las muestras con 100% Ar que sí produjo una reducción significativa de este metabolismo; además, el Ar incrementaría la difusión de gases como el CO<sub>2</sub> y etileno desde los tejidos vegetales, debido a su densidad mayor al N<sub>2</sub> (Gorny y Agar, 1998). Day (1998), demostró que atmósferas con He aumentarían la difusión de O<sub>2</sub>, por lo que disminuiría la gradiente de concentración entre el interior y exterior de la célula, minimizando el riesgo de fermentación; además, el He al

mezclarse con el O<sub>2</sub>, presenta una baja densidad y un elevado coeficiente de difusión y, por tanto, facilita la llegada del O<sub>2</sub> a las células y la eliminación del CO<sub>2</sub> de éstas.

Rocculi *et al.* (2005) observaron que una atmósfera de 90% Ar, 5% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>, mantuvieron la firmeza y aceptabilidad de rebanadas de kiwi hasta 8 días a 4 °C, pero con alteraciones en el color. Además, se observó que 90% N<sub>2</sub>O, 5% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub> fue mejor en la retención de color, firmeza y contenido de sólidos solubles. Estos autores concluyeron que los efectos del N<sub>2</sub>O y Ar podrían deberse a la alta capacidad de estos gases de disolverse en el interior de las células de la pulpa, reduciendo la actividad respiratoria y metabólica.

En investigación realizada en hojas de berros a 5 °C con atmósferas de 90% de N<sub>2</sub>, Ar, He y N<sub>2</sub>O combinados con 10% de O<sub>2</sub> y aire; obtuvieron que, después de 13 días la concentración del N<sub>2</sub> se mantuvo constante, el Ar disminuyó hasta 55% y el He hasta 16%, en cambio el N<sub>2</sub>O en el día 3 disminuyó a 0% hasta el final del periodo. El recuento de aerobios mesófilos (RAM) de los tratamientos N<sub>2</sub>, Ar y Aire promediaron 5,6 log UFC·g<sup>-1</sup>, inferiores a los demás tratamientos de 5,9 log UFC·g<sup>-1</sup>; del día 6 al 9, y He presentó recuentos significativamente mayores, respecto a los demás tratamientos. El recuento de enterobacterias aumentó en todos los tratamientos, los seis primeros días las atmósferas con Ar y N<sub>2</sub> mostraron los menores recuentos promediando 6,2 log UFC·g<sup>-1</sup>; del día 6 al 13 no hubo diferencias significativas (Araneda, 2012).

Inestroza (2011), en hojas enteras de rúcula a 5 °C, con atmósferas de 90% O<sub>2</sub> con 10% N<sub>2</sub>; 90% de Ar, He, N<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O con 10% O<sub>2</sub> y aire, presentaron RAM inicial de 5,2 log UFC·g<sup>-1</sup>, del día 7 al 11 no se observaron diferencias significativas, siendo los recuentos al final del periodo de 5 y 6,4 log UFC·g<sup>-1</sup>. Los recuentos iniciales de enterobacterias fueron de 4,1 log UFC·g<sup>-1</sup>, al final del almacenamiento el aire obtuvo los recuentos mayores de 5,6 log UFC·g<sup>-1</sup>, y los demás tratamientos de 3,1 a 4,4 log UFC·g<sup>-1</sup>; resultados que demuestran que atmósferas con gases no convencionales y altas concentraciones de O<sub>2</sub> tienen efecto significativo sobre las enterobacterias, pero no sobre el RAM.

Una de las metodologías usadas en investigaciones de productos MPF para evaluar la efectividad del tratamiento sobre el crecimiento microbiano es la inoculación de estos productos con bacterias, dentro de las cepas más usadas están *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*; además, con esto se garantiza que todos los tratamientos se inicien en similares condiciones de infección (Yaun *et al.*, 2004).

De acuerdo a diversos antecedentes de investigación, la utilización de altas concentraciones de O<sub>2</sub> y gases no convencionales como el Ar, He y N<sub>2</sub>O mediante EAMA podría mostrar resultados prometedores en hortalizas MPF. Sin embargo, no existen estudios *in vivo* en los que se haya investigado el efecto de estas atmósferas sobre el crecimiento microbiano en hortalizas MPF inoculadas con bacterias, y mucho menos en hojas de rúcula.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del EAMA con inyección de gases Ar, He, N<sub>2</sub>O y altas concentraciones de O<sub>2</sub> sobre el crecimiento microbiológico en hojas de rúcula (*Eruca sativa var. vesicaria*) inoculadas con *E. coli* y almacenadas durante 10 días a 5 °C.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de estudio, material vegetal y condiciones de estudio

Este trabajo se realizó en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC), de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Se utilizaron hojas de rúcula (*Eruca sativa var. vesicaria*) provenientes de la Comuna Calera de Tango, Región Metropolitana, Chile. Este cultivo se realizó con siembra escalonada, bajo invernadero y se cosechó el día anterior al procesamiento, en enero de 2012.

La forma de cosecha fue manual con tijera. Las características iniciales promedio de las hojas de rúcula (Figura 1) fueron un peso de 0,4 g, largo de 7,6 cm y ancho de 3,3 cm. En color, las hojas tuvieron una luminosidad de 43,9, saturación de 30,1 y tono de 125,4.



Figura 1. Hojas de rúcula utilizadas para inoculación con *E. coli* y EAMA.

Para la inoculación de hojas de rúcula se utilizó cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 35218 no patógena, obtenido de la distribuidora autorizada Agrobiotek Internacional (ABT®). Para generar el envasado en atmósferas modificadas activas (EAMA), los gases que se emplearon fueron: Ar, He, N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> a concentraciones altas; obtenidos de la empresa INDURA S.A., Santiago (Chile). Las hojas de rúcula se envasaron en bolsas de polipropileno (PP) de 10 x 20 cm, con una baja permeabilidad al O<sub>2</sub> (25 mL·m<sup>-2</sup>·día<sup>-1</sup>·bar<sup>-1</sup>) y al CO<sub>2</sub> (71 mL·m<sup>-2</sup>·día<sup>-1</sup>·bar<sup>-1</sup>), provista por la empresa “Plaspak Maquinaria”.

### Preparación de la muestra

Las hojas de rúcula se seleccionaron, clasificaron y pre-acondicionaron en una sala de manipulación a 8 °C. Se realizó un primer lavado con agua potable, un segundo lavado en una solución de hipoclorito de sodio (95 mg L<sup>-1</sup>, pH 6,5) y un enjuague con agua estéril (agua destilada autoclavada a 121 °C por 15 min, luego enfriada a 5 °C). Todas las inmersiones se realizaron a 5 °C por 1 minuto, posteriormente se escurrieron y centrifugaron manualmente durante 3 y 1 minuto, respectivamente.

### Inoculación, tratamientos y condiciones de almacenamiento

El inóculo se preparó transfiriendo un cultivo conservado en un tubo de ensayo a 0 °C de *E. coli* ATCC 35218 no patógena, a un matraz Erlenmeyer con 100 mL de Caldo Tripteína Soja con 0,6 % de Extracto de Levadura (CTS-E) y se incubó con agitación a 37 °C durante 24 h.

La inoculación se realizó por inmersión de las hojas de rúcula en una solución compuesta por 1 mL de inóculo por cada 1000 mL de agua peptona al 0,1%, esta solución presentó un recuento inicial de *E. coli* de  $8 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ . Seguidamente se pesaron muestras de 20 g y se envasaron en bolsas de polipropileno (PP) de 10 x 20 cm.

Para generar el EAMA se utilizaron inyecciones con gases de argón (Ar), helio (He), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y alto oxígeno ( $\text{O}_2$ ); inmediatamente después de la inyección de gases, se realizó un termosellado con un equipo sellador de bolsas plásticas. En el caso del tratamiento de aire, a las bolsas con hojas de rúcula, se le realizaron 7 perforaciones a cada cara, con una aguja de 0,8 mm de diámetro. Finalmente las bolsas con las hojas de rúcula procesadas se almacenaron a  $5 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  y 95 % HR durante 10 días.

Las evaluaciones se realizaron los días 0, 2, 6 y 10. Los cinco tratamientos evaluados se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Detalle de los tratamientos del envasado en atmósferas modificadas activas para las hojas de rúcula.

Tratamiento	EAMA inicial
Aire	Aire (21% $\text{O}_2$ + 79% $\text{N}_2$ )
Ar	53% Ar + 41% $\text{O}_2$ + 6% $\text{N}_2$
He	53% He + 42% $\text{O}_2$ + 5% $\text{N}_2$
$\text{N}_2\text{O}$	53% $\text{N}_2\text{O}$ + 42% $\text{O}_2$ + 5% $\text{N}_2$
$\text{O}_2$	80% $\text{O}_2$ + 20% $\text{N}_2$

#### Composición de la atmósfera modificada

La evolución de la concentración de gases de  $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$  al interior de las bolsas de plástico se determinó por medio de un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca). Adicionalmente en este ensayo se determinó la concentración del  $\text{N}_2$  al interior de las bolsas para lo que se utilizó un cromatógrafo de gases (CG) (Hewlett Packard, 5890 A serie II, Palo Alto, CA, EE.UU.) y por diferencia se determinó la concentración del Ar, He y  $\text{N}_2\text{O}$  durante el almacenamiento. Para tomar las muestras gaseosas para el CG se extrajeron 10 mL del gas. Las concentraciones se expresaron como porcentajes de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , Ar,  $\text{N}_2$ , He y  $\text{N}_2\text{O}$ .

#### Análisis microbiológico

Las determinaciones microbiológicas se realizaron tomando muestras de 10 g de hojas por cada repetición, los días 0, 2, 6 y 10. Cada muestra se

mezcló con agua peptonada tamponada al 0,1% estéril y se homogenizó durante 30 segundos en un digestor (Stomacher) (IUL Instruments, Barcelona, España). Se realizaron diluciones seriadas agua peptonada tamponada al 0,1%. La determinación de *E. coli* y enterobacterias se realizaron usando agar eosina azul de metileno (EMB) incubado a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 2 días. Todos los medios de cultivo se adquirieron de Merck (Darmstadt, Alemania). Los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de unidad formadora de colonia por gramo ( $\log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

#### Diseño de experimentos y análisis estadístico

En este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y 3 repeticiones cada uno, donde cada mezcla del EAMA correspondió a un tratamiento (Tabla 1). La unidad experimental correspondió a una bolsa con 20 g de hojas de rúcula. Los resultados obtenidos de la evaluación microbiológica y composición atmosférica fueron evaluados con un análisis de varianza (ANDEVA) con un 5% de significancia. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $\alpha \leq 0,05$ ). Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab Release 16.1.

## RESULTADOS

#### Composición de la atmósfera modificada

**Concentración de  $\text{CO}_2$**  (Figura 2A): el tratamiento con aire se mantuvo constante (0,4%) durante toda la conservación. En los demás tratamientos como era de esperar, la concentración de  $\text{CO}_2$  aumentó gradualmente hasta el final del periodo, alcanzando un máximo de 20 a 23%, excepto en el tratamiento He en donde el  $\text{CO}_2$  se incrementó a 10%. Estos resultados muestran que desde el día 2 al 10, el tratamiento con He fue significativamente inferior al Ar,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$  y mayor al aire.

**Concentración de  $\text{O}_2$**  (Figura 2B): el tratamiento con aire se mantuvo constante en 21% durante el almacenamiento. Sin embargo, los demás tratamientos disminuyeron gradualmente hasta el día 10, He y  $\text{N}_2\text{O}$  disminuyeron desde 42 a 27%  $\text{O}_2$ ; en Ar hubo un descenso de 41 a 20%  $\text{O}_2$ ; y en  $\text{O}_2$  disminuyó

desde 80 a 58% O<sub>2</sub>. Desde el día de proceso hasta el día 6, los tratamientos Ar, He y N<sub>2</sub>O fueron significativamente superiores al tratamiento con aire y menores que el tratamiento con O<sub>2</sub>. El día 10, Aire, Ar, He y N<sub>2</sub>O fueron significativamente menores que O<sub>2</sub>.

**Concentración de gases no convencionales:** las concentraciones de Ar y He durante el almacenamiento fue de 52 a 53%; mientras que el N<sub>2</sub>O, desde el día de proceso al día 10, disminuyó de 53 a 47% (Figura 2C).

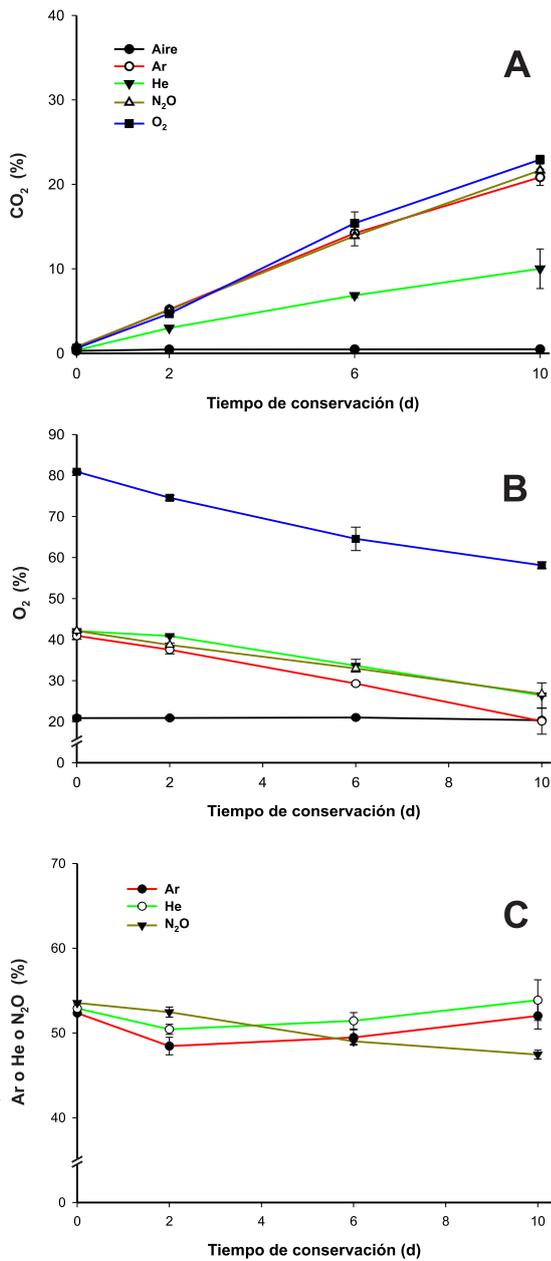


Figura 2. Evolución de los gases CO<sub>2</sub> (A), O<sub>2</sub> (B) y Ar, He o N<sub>2</sub>O (C) de hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

**Análisis microbiológico**

**Recuento de *E. coli*:** La hojas de rúcula procesadas presentaron recuentos iniciales de <1 log UFC·g<sup>-1</sup>. Después de ser inoculadas los tratamientos alcanzaron de 6,0 a 6,7 log UFC·g<sup>-1</sup> (Figura 3). Durante la conservación, el recuento en los tratamientos experimentó una ligera disminución; notándose que del día 2 al 10, hubo diferencias significativas de los tratamientos aire, Ar y He con los tratamientos N<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub>. Al final del periodo, Aire, Ar y He presentaron recuentos menores de 4,8 a 5,0 log UFC·g<sup>-1</sup>, respecto al N<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub> de 5,5 a 5,8 log UFC·g<sup>-1</sup>.

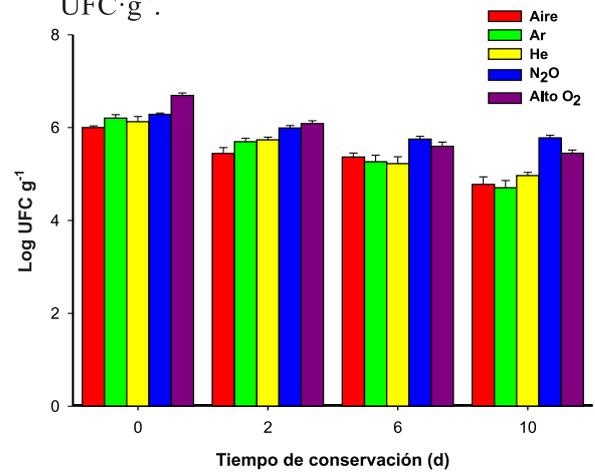


Figura 3. Recuento de *E. coli* en hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

**Recuento de enterobacterias:** El día de proceso, las hojas procesadas sin inocular presentaron un recuento inicial de 4,8 log UFC·g<sup>-1</sup> (Figura 4); después de ser inoculadas los tratamientos alcanzaron recuentos de 6,0 a 6,7 log UFC·g<sup>-1</sup>. Durante la conservación, los recuentos en los tratamientos experimentaron un ligero aumento. El día 6, los recuentos de He y Ar promediaron 6,1 log UFC·g<sup>-1</sup>, que fueron significativamente inferiores a los demás tratamientos con valores de 6,3 a 6,7 log UFC·g<sup>-1</sup>. El día 10, He presentó recuentos significativamente menores de 6,7 log UFC·g<sup>-1</sup>, en comparación con los demás tratamientos con valores de 6,8 y 7,4 log UFC·g<sup>-1</sup>.

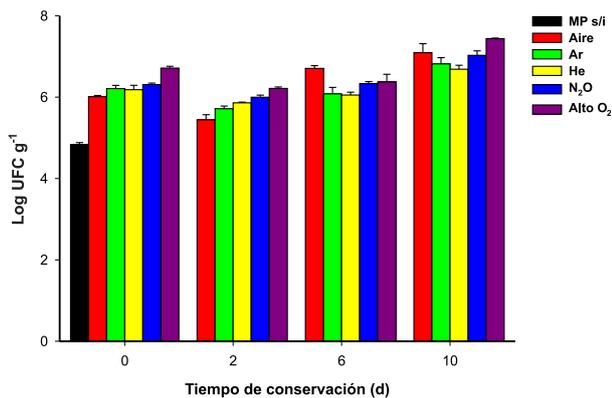


Figura 4. Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a 5 °C. MP s/i: Materia prima procesada sin inocular. Las barras indican el error estándar (n=3).

## DISCUSIÓN

Los antecedentes descritos señalan que el tratamiento He, desde el día 2 hasta el final del periodo, presentó una menor concentración de CO<sub>2</sub> en relación a los tratamientos Ar, N<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub>, esto puede deberse a que He es un gas que podría reducir la respiración en hortalizas de hoja (Day, 1998). En estudios reportados en hojas de berros se obtuvo una respuesta diferente, al final de los 13 días a 5 °C, el tratamiento N<sub>2</sub>O tuvo menor CO<sub>2</sub> de 1,8% en relación a los demás tratamientos N<sub>2</sub>, Ar y He de 4,3 a 4,8% CO<sub>2</sub> (Araneda, 2012).

En relación a la concentración de O<sub>2</sub>, los resultados muestran que desde el día 6 al 10, el tratamiento Ar presentó una mayor disminución de O<sub>2</sub> en relación al He y N<sub>2</sub>O, esto se atribuiría a que Ar facilita la difusión del O<sub>2</sub> al interior de los tejidos de rúcula, favoreciendo un mayor consumo de O<sub>2</sub> (Gorny y Agar, 1998).

Los gases Ar y He se mantuvieron constantes en el interior de las bolsas, debido a la baja permeabilidad de la película plástica y al hecho de que estos gases son inertes y no participarían de los procesos metabólicos de la rúcula. En cambio el N<sub>2</sub>O si experimentó una leve disminución, esto debido probablemente a su estructura química lineal lo cual le confiere una alta solubilidad (Gouble *et al.*, 1995) y por ende, una mayor difusividad a través de la

película plástica. Araneda (2012), obtuvo una respuesta similar en hojas de berros a 5 °C, donde observó una mayor pérdida de N<sub>2</sub>O a partir del día 3, en relación del Ar y He.

Inestroza (2011), en estudios en hojas de rúcula con gases no convencionales, observó que la concentración de CO<sub>2</sub> se estabilizó a partir del segundo día a 5 °C, para todos los tratamientos en valores de 3 a 4% CO<sub>2</sub>. La concentración de O<sub>2</sub> en todos los tratamientos se mantuvo entre 10 y 15% durante los 11 días, excepto en el tratamiento con O<sub>2</sub> que disminuyó de 85 a 15% O<sub>2</sub>; este comportamiento no coincide al obtenido en éste trabajo, debido probablemente a las diferentes condiciones de trabajo como: permeabilidad de las bolsas, concentración inicial de los gases, cantidad de hojas por bolsa y tiempo de almacenamiento.

Allende *et al.* (2004), en estudios realizados en tiras de espinaca, envasadas en atmósferas con 21, 80 y 100% O<sub>2</sub>, empleando bolsas de baja permeabilidad, encontraron que las hojas envasadas a 80% de O<sub>2</sub> experimentaron una disminución de 80 a 60% O<sub>2</sub> y un aumento de 0 a 20% CO<sub>2</sub>; siendo este comportamiento similar al observado en el presente estudio.

La ligera disminución de los recuentos de *E. coli*, podría atribuirse al incremento en la concentración de CO<sub>2</sub> en las bolsas y a su efecto bactericida (Devlieghere *et al.*, 2000 citado por Allende *et al.*, 2004); y a la competencia con otros tipos de enterobacterias; o a ambos.

Con respecto al recuento de enterobacterias, las mayores diferencias significativas entre los tratamientos se observaron a partir del segundo día, esto podría deberse al incremento del CO<sub>2</sub> en la bolsa, ya que este gas como se mencionó tiene efecto antimicrobiano (Allende *et al.*, 2004).

Según Araneda (2012), hojas de berros a 5 °C con aire, Ar, N<sub>2</sub>, He y N<sub>2</sub>O, presentaron recuentos iniciales de enterobacterias de 4,7 log UFC·g<sup>-1</sup>; y tras 6 días, Ar y N<sub>2</sub> obtuvieron recuentos menores de 6,1 a 6,2 log UFC·g<sup>-1</sup> en relación a los demás tratamientos. Según Inestroza (2011), las hojas de rúcula después de 7 días a 5 °C y conservadas en aire, Ar, N<sub>2</sub>, He, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O, tuvieron recuentos de 3 log UFC·g<sup>-1</sup> y aquellas en aire de 5,6 log UFC·g<sup>-1</sup>. Robles *et al.* (2010), encontraron que hojas de mizuna almacenados 8 días a 5 °C, en atmósferas

de 83% He + 15% CO<sub>2</sub> + 2% O<sub>2</sub> redujeron de 1 a 1,5 unidades los recuentos de enterobacterias, en comparación al testigo en aire.

Allende *et al.* (2004), en hojas de espinaca en tiras a 5 °C con 21, 80 y 100% O<sub>2</sub> combinado con N<sub>2</sub>, encontraron que tras 12 días en 100% O<sub>2</sub> hubo 6,8 log UFC·g<sup>-1</sup> de enterobacterias, 0,6 unidades log menos que con 80 y 21% O<sub>2</sub>.

## CONCLUSIONES

- Los gases Ar y He presentaron una menor difusión en películas plásticas de baja permeabilidad, en comparación con el N<sub>2</sub>O.
- Los recuentos de *E. coli* experimentaron una ligera disminución en el tiempo, debido probablemente a la acción bactericida del CO<sub>2</sub> y a la competencia con otras bacterias.
- Las atmósferas con Ar y He, presentaron una mayor reducción en el crecimiento de *E. coli* y enterobacterias en las hojas de rúcula.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Becas Internacionales de la Fundación Ford (IFP), a los Proyectos Fondecyt N°1120274 e Inserción de Capital Humano N°79100005 (CONICYT, Chile) por financiar esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allende, A., Y. Luo, J. McEvoy, F. Artés and C. Wang. 2004. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 33: 51–59.

Araneda, C.A. 2012. Efecto de gases no convencionales sobre la calidad de berros (*Nasturtium officinale* R. Br.) bajo atmósfera modificada activa. Memoria para optar el título de Ingeniera Agrónoma. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago, Chile. 59p.

Artés, F. and A. Allende. 2005. Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy

vegetables. *European Journal of Horticultural Science* 70 (5): 231–245.

- Day, B. 1998. Novel MAP. A brand new approach. *Food manufacture* 73 (11): 22–25.
- Escalona, V.H., S. Geysen, B. Verlinden and B. Nicolai. 2007. Microbial quality and browning of fresh-cut butter lettuce under superatmospheric oxygen condition. *European Journal of Horticultural Science* 72 (3): 130–137.
- Gorny J. and I. Agar. 1998. Are argon-enriched atmospheres beneficial?. *Perishables Handling News* 94: 7–8.
- Gouble, B., D. Fath and P. Soudain. 1995. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biology and Technology* 5: 311–321.
- Inestroza, C.O. 2011. Efecto de atmósferas modificadas activas y sanitizantes alternativos al cloro sobre la calidad microbiológica y funcional en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*). Tesis Magister en Ciencia Agronómicas, Mención Producción Agroindustrial. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 159p.
- Jamie, P. and M. Saltveit. 2002. Postharvest changes in broccoli and lettuce during storage in argon, helium, and nitrogen atmospheres containing 2% oxygen. *Postharvest Biology and Technology* 26: 113–116.
- Kader, A.A. 2002. Quality Parameters of Fresh-cut Fruit and Vegetable Products. pp. 21–30. In: Lamikanra, O. (Ed). *Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology, and market*. Florida, EE.UU. 452p.
- Kader, A.A. and S. Ben-Yehoshua. 2000. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 20: 1–13.
- Robles P., A. Tomás-Callejas, V.H. Escalona, F. Artés and F. Artés-Hernández. 2010. High helium controlled atmosphere storage decreases microbial growth and preserves quality on fresh-cut mizuna baby leaves. *Revista Acta Horticultu-*

Rocculi, P., S. Romani and M. Dalla Rosa. 2005. Effect of MAP with argon and nitrous oxide on quality maintenance of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 35: 319–328.

Yaun, B.R., S.S. Sumner, J.D. Eifert and J.E. Marcy. 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal Food Microbiology* 90: 1–8.

### **CORRESPONDENCIA:**

Ives J. Yoplac Tafur

ivesjyt@ug.uchile.cl

Víctor H. Escalona Contrera

vescalona@uchile.cl.

Dirección: Calle Santa Rosa N° 11315, La Pintana,  
Santiago - Chile