



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

---

***Trabajo de Tesis Doctoral:***

**INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD DE RADIACIÓN UV,  
Y DEL FRACCIONAMIENTO DE LOS TRATAMIENTOS  
UV-C SOBRE LA CALIDAD Y MADURACIÓN Y  
ACTIVACIÓN DE RESPUESTA DEFENSIVA EN  
FRUTOS.**

---

**Tesista: Mg. Leidy Carolina Ortiz Araque**

**Director: Dr. Ariel Roberto Vicente**

**Codirector: Dr. Pedro Marcos Civello**

**2021**

---

---

*La vida no es fácil para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste.*

---

---



**CIDCA**



**U. N. L. P.**

*El presente trabajo de Tesis para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado por la Ing. M. Sc Leidy Carolina Ortiz Araque en el Centro de investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, La Plata, Argentina), bajo la dirección del Dr. Ariel R. Vicente y la co-dirección del Dr. Marcos Civello.*

## **AGRADECIMIENTOS**

- *A mi director el Dr. Ariel Vicente, quién fue mi guía y mi inspiración por esa dedicación a la investigación y a la docencia, quién me apoyo en todo este proceso para mi desarrollo profesional como personal y sobre todo por la oportunidad de hacer parte del equipo de trabajo.*
- *Al Dr. Marcos Civello por su contribución y apoyo en la ejecución de la tesis.*
- *A todas las personas que trabajan en el grupo de vegetales, la doctora Alicia Chaves y Analía Concellón, a María José Zaro, por compartir su conocimiento y apoyo, a Facundo Massolo, Joaquín Hasperué, Cristian Ortiz y Luis Rodoni quienes estaban dispuestos a colaborar conmigo en el CIDCA especialmente a Lucia Valerga y Magalí Darré quienes compartimos valiosos momentos y fueron mi apoyo incondicional.*
- *A todas las personas que trabajan en la Cátedra de Lechería y Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales: Elisa Miceli, Gabriela Bello, Laura Terminiello, Jorge Lara, Laura Lemoine, Eduardo Artiñano, de quienes aprendí mucho y obtuve constante apoyo.*
- *Al CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) por su apoyo económico y académico en la Beca Doctoral.*
- *A la Universidad Nacional de la Plata (UNLP) por aportar a mi crecimiento académico y humano.*
- *Al CIDCA tanto por sus recursos tecnológicos como humanos: Investigadores, Becarios, Personal de Apoyo, Técnicos, Administrativos y servicios generales; por participar y colaborar en las actividades requeridas para desarrollar esta tesis.*

- *A mis padres Carmen y Luis, muy especialmente a mi madre que fue mi gran pilar en cada una de mis etapas y enseñarme los valores adquiridos, por motivarme y apoyarme siempre, a mi hermana Andrea y sobrinas quien me han alentado a la distancia, para seguir con mis sueños y alcanzar mis logros.*
- *A mi hijo Matías Andrés y mi esposo Jamir Contreras por el amor, apoyo, paciencia y comprensión para la culminación de esta etapa.*

## ÍNDICE GENERAL

### INTRODUCCIÓN

1.	FRUTILLA: ORÍGENES DEL CULTIVO Y PRINCIPALES ESPECIES	24
2.	PRODUCCIÓN DE FRUTILLA	27
2.1.	Producción y comercio mundial	27
2.2.	Producción nacional	27
3.	MORFOLOGÍA, COMPOSICIÓN, MADURACIÓN, CALIDAD Y POSCOSECHA	31
3.1.	Morfología de los frutos	32
3.2.	Composición de los frutos	32
3.3.	Fisiología de la maduración	35
3.4.	Calidad, cosecha y acondicionamiento a campo de la frutilla	37
3.5.	Principales problemas de poscosecha y estrategias comunes para reducirlos	38
4.	USO DE LA IRRADIACIÓN UV-C EN LA POSCOSECHA DE FRUTAS FRESCAS COMO TRATAMIENTO PARA MANTENER LA CALIDAD	42
4.1.	Aspectos generales de la radiación ultravioleta	42
4.2.	Principales efectos de la irradiación UV-C en poscosecha de frutos	44
4.3.	Tratamientos UV-C en poscosecha ¿qué factores afectan su eficacia?	45
	OBJETIVO GENERAL	47
	Objetivos específicos	

### CAPÍTULO I. INFLUENCIA DE LA DOSIS, INTENSIDAD DE RADIACIÓN UV-C GRADO DE PROCESAMIENTO EN EL DETERIORO DE FRUTILLA MINIMAMENTE PROCESADA. 48

I.1.	INTRODUCCIÓN	49
I.1.1.	Potencialidad de vegetales mínimamente procesados para facilitar el consumo de frutas y hortalizas en estado fresco.	49
I.1.2.	Generalidades del proceso de elaboración.	49
I.1.3.	Calidad, vida útil y manejo poscosecha de productos mínimamente procesados	51
I.1.4.	Producción de frutilla mínimamente procesada, limitaciones para su difusión y uso de la radiación UV-C como tecnología complementaria a la refrigeración: algunos interrogantes.	54
I.2.	OBJETIVO	57
I.3.	MATERIALES Y MÉTODOS	58
I.3.1.	Selección de la combinación óptima de dosis e intensidad de radiación UV-C	58
I.3.2.	Efecto del tratamiento UV-C seleccionado sobre la calidad físico-química, microbiológica y sensorial de la fruta y su vida útil de los frutos	59
I.3.2.1.	<i>Índice de deterioro visual y exudado de jugo</i>	59
I.3.2.2.	<i>Pérdida de peso</i>	60
I.3.2.3.	<i>Recuentos en placa de levaduras y mohos</i>	60
I.3.2.4.	<i>Firmeza</i>	60
I.3.2.5.	<i>Color superficial</i>	60
I.3.2.6.	<i>pH, acidez y sólidos solubles</i>	61

I.3.2.7.	<i>Antioxidantes fenólicos</i>	61
I.3.2.8	<i>Evaluación sensorial</i>	61
I.3.3.	Efecto del grado de procesamiento sobre la eficacia de tratamientos UV-C en frutilla mínimamente procesada	61
I.3.4.	Análisis estadístico	62
I.4.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	63
I.4.1.	Selección de la combinación óptima de dosis e intensidad de radiación UV-C	63
I.4.2.	Efecto del tratamiento seleccionado con UV-C sobre la calidad físico-química, microbiológica y sensorial de la frutilla recién cortada y su vida útil	65
I.4.3.	Efecto del grado de procesamiento sobre la eficacia de tratamientos UV-C en frutilla mínimamente procesada	73
I.5.	<b>CONCLUSIONES</b>	75
 <b>CAPÍTULO II. IMPACTO DEL PATRÓN DE EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN UV-C EN LA VIDA POSCOSECHA DE FRUTILLA ALMACENADA.</b>		76
II.1.	<b>INTRODUCCIÓN</b>	77
II.1.1.	Podredumbres poscosecha de frutilla por <i>Botrytis cinerea</i> (podredumbre gris) y <i>Rhizopus stolonifer</i> (podredumbre algodonosa).	77
II.1.2.	Control de podredumbres en poscosecha de frutilla: Una paleta limitada de opciones.	79
II.1.3.	Uso de radiación UV-C extender la vida poscosecha de frutilla entera: avances, situación actual y huecos de conocimiento	81
II.2.	<b>OBJETIVO</b>	85
II.3.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	86
II.3.1.	Material vegetal y tratamientos	86
II.3.2.	Determinaciones analíticas	87
II.3.2.1.	<i>Incidencia de podredumbres</i>	87
II.3.2.2.	<i>Tasa respiratoria</i>	87
II.3.2.3.	<i>Recuento de mohos y levaduras</i>	87
II.3.2.4.	<i>Pérdida de peso</i>	87
II.3.2.5.	<i>Color superficial</i>	88
II.3.2.6.	<i>Firmeza</i>	88
II.3.2.7.	<i>Sacarosa, glucosa y fructosa</i>	88
II.3.2.8.	<i>Acidez</i>	89
II.3.2.9.	<i>Ácido ascórbico</i>	89
II.3.2.10.	<i>Evaluación sensorial</i>	89
II.3.3.	Análisis estadístico	90
II.4.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	91
II.4.1.	Incidencia de podredumbres	91
II.4.2.	Recuento de mohos	92
II.4.3.	Tasa respiratoria	93
II.4.4.	Pérdida de peso	94
II.4.5.	Color superficial	97
II.4.6.	Color del cáliz	98
II.4.7.	Firmeza	100

II.4.8.	Azúcares, acidez y ácido ascórbico	101
II.4.9.	Evaluación sensorial	103
II.5.	CONCLUSIONES	105
<b>CAPÍTULO III. EFECTOS SUPERFICIALES DE LA APLICACIÓN DE PULSOS DE IRRADIACIÓN UV-C EN FRUTILLA: IMPACTO SOBRE LA TEXTURA Y EL METABOLISMO DE PAREDES CELULARES.</b>		106
III.1.	INTRODUCCIÓN	107
III.1.1.	Pared celular vegetal: Una estructura compleja y dinámica	107
III.1.2.	Degradación de pared celular y ablandamiento durante la maduración: Un proceso de desorganización organizado	110
III.1.3.	Efecto de tratamientos UV-C en el metabolismo de pared de los frutos	112
III.2.	OBJETIVO	113
III.3.	MATERIALES Y MÉTODOS	114
III.3.1.	Material vegetal, tratamientos y almacenamiento	114
III.3.2.	Determinaciones analíticas	115
III.3.2.1.	<i>Propiedades mecánicas</i>	115
III.3.2.2.	<i>Residuo insoluble en alcohol (RIA)</i>	115
III.3.2.3.	<i>Fraccionamiento de la pared celular</i>	115
III.3.2.4.	<i>Ácidos urónicos (AU)</i>	116
III.3.2.5.	<i>Azúcares neutros (AN)</i>	116
III.3.2.6.	<i>Ramificación de pectinas</i>	117
III.3.2.7.	<i>Preparación de extractos enzimáticos</i>	117
III.3.2.8.	<i>Poligalacturonasa (PG, EC 3.2.1.15)</i>	117
III.3.2.9.	<i><math>\alpha</math>-D-xilosidasa (<math>\beta</math>-xil EC 3.2.1.37)</i>	117
III.3.2.10.	<i>Endo-<math>\beta</math>-1,4-glucanasa (EGasa, EC 3.2.1.4)</i>	118
III.3.2.11.	<i><math>\alpha</math>-L-arabinofuranosidasa (<math>\alpha</math>-L-ara, EC 3.2.1.55)</i>	118
III.3.2.12.	<i><math>\beta</math>-D-galactosidasa (<math>\beta</math>-gal, EC 3.2.1.23)</i>	119
III.3.2.13.	<i><math>\beta</math>-glucosidasa (<math>\beta</math>- glc, EC 3.2.1.21)</i>	119
III.3.2.14.	<i><math>\alpha</math>-galactosidasa (<math>\alpha</math>-gal EC, 3.2.1.22)</i>	119
III.3.2.15.	<i>Extracción y determinación de actividad pectilmetilesterasa (PME, EC 3.1.1.11)</i>	120
III.3.3.	Análisis estadístico	120
III.4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	121
III.4.1.	Propiedades mecánicas de los frutos	121
III.4.2.	Actividad de enzimas involucrados en la degradación de hemicelulosa	123
III.4.3.	Actividad de enzimas involucrados en la degradación de pectina	126
III.4.4.	Solubilización de hemicelulosas	130
III.4.5.	Solubilización de pectinas y contenido total de pared celular (RIA)	131
III.4.6.	Ramificación de pectinas ligadas fuertemente a la pared	133
III.5.	CONCLUSIONES	135

<b>CAPÍTULO IV. EFECTOS SUPERFICIALES DE LA APLICACIÓN DE PULSOS DE IRRADIACIÓN UV-C EN FRUTILLA: IMPACTO SOBRE EL DESARROLLO DE PODREDUMBRES Y EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES.</b>	136
IV.1. INTRODUCCIÓN	137
IV.1.1. Especies reactivas del oxígeno (EROs) y metabolismo antioxidante	137
IV.1.2. Principales compuestos antioxidantes en frutos	137
IV.1.2.1. <i>Compuestos fenólicos</i>	138
IV.1.2.2. <i>Ácido ascórbico y glutatión</i>	141
IV.1.2.3. <i>Carotenoides</i>	142
IV.1.2.4. <i>Tocoferoles y tocotrienoles</i>	143
IV.1.3. Impacto de tratamientos UV-C durante la poscosecha en los niveles de antioxidantes en frutos	143
IV.2. OBJETIVO	146
IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS	147
IV.3.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento	147
IV.3.2. Determinaciones analíticas	148
IV.3.2.1. <i>Incidencia y severidad de podredumbres</i>	148
IV.3.2.2. <i>Capacidad antioxidante contra el radical DPPH •</i>	148
IV.3.2.3. <i>Capacidad antioxidante contra el radical ABTS<sup>+</sup> •</i>	149
IV.3.2.4. <i>Fenoles totales</i>	
IV.3.2.5. <i>Flavonoides totales</i>	149
IV.3.2.6. <i>Antocianinas</i>	150
IV.3.2.7. <i>Carotenoides</i>	150
IV.3.2.8. <i>Histolocalización de ácidos fenólicos</i>	151
IV.3.2.9. <i>Ácido Ascórbico (AsA) y ácido deshidroascórbico (DHA)</i>	151
IV.3.2.10. <i>Glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG)</i>	152
IV.3.3. Análisis estadístico	152
IV.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	153
IV.4.1. Incidencia y severidad de podredumbres	153
IV.4.2. Efectos superficiales del modo de aplicación de tratamientos UV-C en los antioxidantes	154
IV.4.2.1. <i>Capacidad antioxidante contra los radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH•</i>	154
IV.4.2.2. <i>Compuestos fenólicos</i>	155
IV.4.2.3. <i>Carotenoides, ácido ascórbico y glutatión</i>	161
IV.4.3. Cambios en los niveles de antioxidantes en respuesta a la irradiación UV-C: Efectos a nivel superficial e interno	164
IV.5. CONCLUSIONES	167
<b>CONCLUSIONES FINALES</b>	170
<b>REFERENCIAS</b>	173

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Aspectos morfológicos de la frutilla.	31
<b>Figura 2.</b> Serie de maduración de frutilla.	37
<b>Figura 3.</b> Diferentes zonas del espectro de radiaciones no ionizantes.	42
<b>Figura 4.</b> Mutaciones inducidas por la radiación UV-C en el ADN.	43

**CAPÍTULO I.**

<b>Figura I.1.</b> Apariencia de frutilla mínimamente procesada en cuartos, control y tratada con diferentes combinaciones de dosis e intensidad de radiación UV-C. Baja intensidad: 9 W m <sup>-2</sup> ; Alta intensidad: 36 W m <sup>-2</sup> ; Dosis baja: 2 kJ m <sup>-2</sup> ; Dosis alta 4 kJ m <sup>-2</sup> .	64
<b>Figura I.2.</b> Selección de condiciones óptimas de tratamiento con UV-C (dosis e intensidad) en frutilla mínimamente procesada almacenada a 4 °C por 4 d. Baja intensidad: 9 W m <sup>-2</sup> ; Alta intensidad: 36 W m <sup>-2</sup> ; Dosis baja: 2 kJ m <sup>-2</sup> ; Dosis alta 4 kJ m <sup>-2</sup> . Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	64
<b>Figura I.3.</b> Índice de deterioro visual (IDV) en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	66
<b>Figura I.4.</b> Exudado de jugo en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	67
<b>Figura I.5.</b> Recuento de mohos y levaduras en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	68
<b>Figura I.6.</b> Pérdida de peso en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	69
<b>Figura I.7.</b> Firmeza en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	70
<b>Figura I.8.</b> Evaluación sensorial (frescura, color y aceptabilidad general) en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	73
<b>Figura I.9.</b> Efecto del grado de procesamiento (mitades y cuartos) sobre el control del deterioro (IDV, deterioro visual, exudado, ablandamiento y pérdida de peso) en frutilla tratada con radiación UV-C (intensidad de radiación 36 W m <sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m <sup>-2</sup> ), almacenada a 4 °C durante 7 días.	74

**CAPÍTULO II**

<b>Figura II.1</b> A) Conidios de <i>B. cinerea</i> con la agrupación típica en racimo sobre conidióforo. B) Desarrollo de <i>Botrytis</i> en frutilla.	78
<b>Figura II.2.</b> A) Esporangios de <i>Rizhopus</i> sobre esporangióforo B) Desarrollo de <i>Rhizopus</i> en frutilla.	79
<b>Figura II.3.</b> Esquema de los tratamientos UV-C empleados en el presente estudio.	86
<b>Figura II.4.</b> Incidencia de podredumbres en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	91
<b>Figura II.5.</b> Recuento de mohos y levaduras en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	93
<b>Figura II.6.</b> Tasa respiratoria en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	94
<b>Figura II.7.</b> Pérdida de peso en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	96
<b>Figura II.8.</b> Luminosidad en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	97
<b>Figura II.9.</b> Color (hue) en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	98
<b>Figura II.10.</b> Color (hue) del cáliz en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	99
<b>Figura II.11.</b> Luminosidad del cáliz en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	100

<b>Figura II.12.</b> Firmeza en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	101
<b>Figura II.13.</b> Evaluación sensorial en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	104
 <b><u>CAPÍTULO III.</u></b>	
<b>Figura III.1.</b> Composición de pared celular primaria (Carpita y Mc Cann, 2015).	108
<b>Figura III.2.</b> Resistencia a la compresión de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	121
<b>Figura III.3.</b> Actividad β-glucosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	123
<b>Figura III.4.</b> Actividad Endo-β-1,4-glucanasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	124
<b>Figura III.5.</b> Actividad α-xilosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	125
<b>Figura III.6.</b> Actividad poligalacturonasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	126
<b>Figura III.7.</b> Actividad pectilmetilesterasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	127
<b>Figura III.8.</b> Actividad α-arabinosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C dos pasos, 2 x2 kJ m <sup>-2</sup> , UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m <sup>-2</sup> ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.	128

- Figura III.9.** Actividad  $\beta$ -galactosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 130
- Figura III.10.** Solubilización de hemicelulosas de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 131
- Figura III.11.** Solubilización de pectinas de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 132
- Figura III.12.** Residuo insoluble en alcohol (RIA) de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 134

#### **CAPÍTULO IV.**

- Figura IV.1.** A) Corte de los discos de la zona transversal de frutilla y B) tratamientos empleados en el presente capítulo 147
- Figura IV.2.** A) Incidencia y B) severidad de podredumbres en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 153
- Figura IV.3.** Capacidad antioxidante A) contra el radical ABTS<sup>•+</sup> y B) DPPH<sup>•</sup> en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 155
- Figura IV.4.** A) Compuestos fenólicos y B) flavonoides en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 157
- Figura IV.5.** Fluorescencia de derivados del ácido hidroxicinámico en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ \text{C}$  durante 13 días. La barra blanca equivale a 2 mm. (Hv. Haces vasculares, T. Tricomas, C. Células parenquimáticas, A. Aquenio. 159
- Figura IV.6.** A) Ácido ascórbico total, B) Ácido ascórbico reducido en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4^\circ \text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 161

**Figura IV.7.** A) Glutación total y B) glutación reducido en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple 1 x 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 4 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05. 163

**Figura IV.8.** Porcentaje de variación de antioxidantes de frutillas tratada con radiación UV-C en forma fraccionada con respecto al control almacenada por 13 días a 0 °C en la zona externa e interna del receptáculo. 165

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Características de las principales especies del género <i>Fragraria</i> .	24
<b>Tabla 2.</b> Producción de frutilla a nivel mundial (FAOSTAT, 2020).	27
<b>Tabla 3.</b> Época de cosecha de frutilla para las principales zonas productivas del país. (Kirschbaum y col. 2017).	26
<b>Tabla 4.</b> Composición de frutilla. Valores expresados cada 100 g de productos fresco (USDA, 2020).	32

**CAPÍTULO I.**

<b>Tabla I.1.</b> Principales causas de deterioro en vegetales mínimamente procesados. Adaptado de Rodoni, (2015).	52
<b>Tabla I.2.</b> Ventajas y desventajas del uso de la radiación UV-C como método de conservación. Adaptado de Sethi y col. (2018).	55
<b>Tabla I.3.</b> Luminosidad ( $L^*$ ), Hue, pH, acidez titulable, sólidos solubles totales (SST) y antioxidantes fenólicos en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación $36 \text{ W m}^{-2}$ y dosis de radiación $4 \text{ kJ m}^{-2}$ ), almacenada a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ .	71

**CAPÍTULO II.**

<b>Tabla II.1.</b> Publicaciones en las que se ha empleado tratamientos UV en frutillas.	82
<b>Tabla II.2.</b> Azúcares, acidez y ácido ascórbico en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos, $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos, $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ .	102

**CAPÍTULO III.**

<b>Tabla III.1</b> Dureza y distancia a la ruptura en frutilla control o tratadas con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento de la irradiación (UV-C simple, $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos, $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos, $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ .	122
<b>Tabla III.2.</b> Ramificación (Az totales/Ac urónicos) de la fracción soluble en $\text{Na}_2\text{CO}_3$ de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, $4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos, $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos, $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ por 13 días. Las letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ .	122

**CAPÍTULO IV.**

**Tabla IV.1.** Antocianinas en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 158

**Tabla IV.2.** Carotenoides en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . 160

## **PUBLICACIONES DERIVADAS**

### **A. EN REVISTAS**

- 1) Ortiz Araque, L.C., Rodoni, L.M., Darré, Magalí., Ortiz, C.M., Civello, P.M., Vicente, A.R. 2018. Cyclic low dose UV-C treatments retain strawberry fruit quality more effectively than conventional pre-storage single high fluence applications, *LWT - Food Science and Technology* 92, 304-311.
- 2) Ortiz Araque, L.C., Ortiz, C.M., Darré, Magalí., Rodoni, L.M, Civello, P.M., Vicente, A.R. 2019. Role of UV-C irradiation scheme on cell wall disassembly and surface mechanical properties in strawberry fruit, *Postharvest Biology and Technology*, 150, 122-128.
- 3) Ortiz Araque LC, Darré M, Civello PM, Vicente AR. 2020. Extensión de la vida útil de frutilla mínimamente procesada empleando tratamientos cortos con UV-C. *Ingeniería e Investigación*. Colombia. Enviado Mayo 2020.
- 4) Ortiz Araque, L.C., Ortiz, C.M., Darré, Magalí, Gergoff Grozef G, Civello, P.M., Vicente, A.R. 2019. Surface antioxidant responses of strawberry fruit as affected by the UV-C irradiation regime. *Postharvest Biology and Technology*. Enviado Marzo 2021

### **B. EN EVENTOS CIENTÍFICOS**

- 1) Ortiz LC, Darré M, Pintos F, Rodoni LM, Civello, PM, Vicente AR. Impacto del modo de aplicación de los tratamientos con radiación UV-C en la calidad y vida poscosecha de frutilla trozada. Congreso CyTAL 2019.
- 2) Ortiz Araque LC, Darré M, Pintos F, Rodoni LM, Civello PM, Vicente AR. Efectos superficiales de la aplicación de pulsos de irradiación UV-C en frutilla: I. Impacto sobre la textura y metabolismo de paredes celulares. *Actas II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha*. 2019.
- 3) Ortiz Araque LC, Darré M, Pintos F, Gergoff Grozzef G, Civello PM, Vicente AR. Efectos superficiales de la aplicación de pulsos de irradiación UV-C en frutilla: II. Impacto sobre los antioxidantes. *Actas II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha*. 2019.

- 4) Ortiz Araque LC, Darré M, Ortiz CM, Civello PM, Vicente AR. Eficacia de tratamientos UV-C cíclicos para retrasar el proceso de ablandamiento en frutilla refrigerada. Actas VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2018.
- 5) Ortiz Araque LC, Darré M, Ortiz CM, Civello PM, Vicente AR. Uso de tratamientos fotoquímicos con radiación UV-C para inducir la acumulación de antioxidantes en frutilla: influencia del patrón de aplicación. Actas VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba, Argentina. 2018
- 6) Ortiz Araque LC, Darré M, Valerga L, Civello PM, Vicente AR. Cambios en los niveles de antioxidantes de frutilla (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) sometida a diferentes tratamientos de irradiación UV-C. Actas I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha. 2017.
- 7) Ortiz Araque LC, Darré M, Civello PM, Vicente AR. Efecto del fraccionamiento de la irradiación UV-C sobre la actividad de enzimas y de polisacáridos de pared celular de frutilla. Actas I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha. 2017.
- 8) Ortiz Araque LC, Darré M, Rodoni L, Civello PM, Vicente AR. Uso de tratamientos UV-C fraccionados para mantener la calidad sensorial e inducir la acumulación de antioxidantes fenólicos en frutilla (*Fragaria* × *ananassa*). Actas VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 (CICyTAC). 2016.
- 9) Ortiz, Araque LC, Darré M, Rodoni L, Civello PM, Vicente AR. Influencia del fraccionamiento de radiación UV-C sobre la calidad de frutilla (*Fragaria* × *ananassa*) en estado de madurez plena. Actas Jornadas de Jóvenes Investigadores FCAyF, Universidad Nacional de la Plata. 2015.
- 10) Ortiz Araque LC, Darre M, Rodoni L, Civello PM, Vicente AR, La aplicación de tratamientos UV-C en forma fraccionada mejora la calidad de frutilla (*Fragaria* x *ananassa*) refrigerada. Actas VIII Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha. Balcarce, Argentina 2015.

## RESUMEN

La radiación ultravioleta ocupa la región entre 100 y 400 nm del espectro electromagnético. Se ha estudiado profusamente con relación a sus efectos ambientales y a sus propiedades germicidas particularmente en lo que se refiere a la subzona C. Si bien inicialmente se utilizó para el tratamiento de aguas y desinfección de materiales y superficies, en recientes años ha comenzado a evaluarse en su aplicación directa en los alimentos. En el caso de frutilla si bien algunos estudios han informado resultados promisorios resta establecer cómo influyen en la eficacia de este tipo de tratamientos variables centrales como el grado de procesamiento de la fruta, la dosis, la intensidad y el patrón de exposición a la radiación. En el presente trabajo se estudió inicialmente la influencia del grado de trozado de los frutos y de la intensidad y dosis de radiación en la efectividad de tratamientos UV-C para mantener la calidad pososecha de frutillas mínimamente procesadas (**Capítulo I**). Para ello, frutillas (cv. Camarosa) en estado de madurez pleno, se trozaron en mitades o cuartos y se sometieron antes del almacenamiento a diferentes combinaciones de dosis (2 o 4 kJ m<sup>-2</sup>) e intensidad (9 o 33 W m<sup>-2</sup>) de radiación UV-C. Todos los tratamientos UV-C ensayados retrasaron el deterioro poscosecha, siendo el efecto beneficioso más marcados cuando mayor fue el grado de trozado de los frutos. Los tratamientos con la dosis más elevada (4 kJ m<sup>-2</sup>) e intensidad alta (36 W m<sup>-2</sup>) de radiación retrasaron el deterioro y redujeron el exudado, la deshidratación los recuentos de hongos y el ablandamiento en forma más eficaz. Los frutos tratados recibieron además la mayor puntuación en atributos sensoriales como frescura, color y aceptabilidad global en un panel de consumidores.

Otra variable del proceso de los tratamientos UV-C que no ha recibido atención a la fecha es el patrón de exposición a la radiación. Así todos de los estudios realizados han evaluado una única exposición realizada antes de iniciar almacenamiento. El impacto que aplicaciones repetidas en dosis pequeñas lo largo del almacenamiento posee en la calidad de los frutos, se desconoce. En el **Capítulo II** se estudió la influencia de tratamientos UV-C sucesivos y fraccionados a lo largo del almacenamiento en la calidad y deterioro poscosecha de frutillas refrigeradas. Para ello, frutillas maduras se sometieron a los siguientes tratamientos: i) Control: Frutos sin irradiar, ii) UV-C simple:

Una dosis de  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  en una única aplicación antes del almacenamiento, iii) UV-C dos pasos: Sometidos a 2 exposiciones sucesivas de  $2 \text{ kJ m}^{-2}$  al inicio y a los 4 días de almacenamiento, iv) UV-C múltiples pasos: Frutos sometidos a 5 exposiciones sucesivas de  $0,8 \text{ kJ m}^{-2}$  a los 0, 2, Resumen 2 4, 6 y 8 días de almacenamiento. Los tratamientos fraccionados mejoraron el mantenimiento de la calidad de los frutos respecto a la irradiación convencional de una única exposición antes del almacenamiento. Los frutos sometidos a 2 ó 5 aplicaciones UV-C en baja dosis se mantuvieron más firmes y presentaron menor incidencia y severidad de podredumbres, sin sufrir cambios en el color, azúcares o acidez. Por otra parte, los frutos irradiación en forma fraccionada recibieron mejor calificación sensorial que los control o tratados en forma convencional (un tratamiento UV-C antes de la refrigeración).

A fin de comprender los mecanismos involucrados en la mejora derivada de la aplicación fraccionada de la radiación UV-C, en el **Capítulo III** se estudió la influencia del patrón de irradiación en el metabolismo de pared celular de los frutos. El ablandamiento fue más efectivamente retrasado en las frutillas expuestas a 2 ó 5 aplicaciones UV-C en baja dosis. La menor pérdida de firmeza en los tratamientos fraccionados se asoció estrechamente con la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -xilosidasa y  $\beta$ -galactosidasa y con un retraso en la solubilización de pectinas, pero no de hemicelulosas. Los tratamientos fraccionados permitieron mantener un mayor grado de ramificación en el ramnogalacturonano de tipo I. Por otra parte, la aplicación repetida de pulsos UV-C favoreció la insolubilización de la pared celular.

Finalmente, en el **Capítulo IV** se estudió la influencia del patrón de irradiación en el desarrollo de enfermedades fúngicas y en la acumulación de antioxidantes. La exposición fraccionada a la radiación UV-C redujo tanto la incidencia como la severidad en el ataque de hongos. Los tratamientos no provocaron cambios en los carotenoides o ácido ascórbico, pero aumentó el nivel de glutatión reducido al final del almacenamiento. Asimismo, incrementó en un 40% el contenido de antioxidantes fenólicos. Mediante evaluación histoquímica se observó que los tratamientos indujeron a la biosíntesis de ácidos fenólicos, especialmente a nivel de pelos epidérmicos. La exposición repetida a

radiación UV-C en baja dosis mostró mayor poder inductor de compuestos fenólicos que los tratamientos convencionales, lo que podría explicar, al menos en parte, la mejor respuesta al ataque de patógenos.

***Palabras clave:*** *Poscosecha, irradiación, ultravioleta, frutillas, ablandamiento, antioxidantes.*

**ABSTRACT**

In the last years, UV-C radiation has started to be evaluated for direct treatments in foods. In fresh fruit, several studies have reported benefits such as spoilage control, delays in ripening and senescence, and antioxidant accumulation. While some studies have found improved keeping quality in UV-C treated strawberries, the impact that process grade such as the applied dose, intensity, and treatment pattern have on fruit postharvest performance is still unknown. In her thesis, we evaluated the influence of radiation doses and intensity on the quality of minimally processed strawberries (Chapter I). Commercially mature fruit (cv. Camarosa) was cut in halves or quarts and subjected to the following pre-storage combinations of dose (Low, 2 kJ m<sup>-2</sup> and High, 4 kJ m<sup>-2</sup>) and intensity (Low, 9 W m<sup>-2</sup> High, 33 W m<sup>-2</sup>) of UV-C irradiation. High dose and High intensity UV-C treatment was the most effective condition for maintaining quality and delaying fruit deterioration. The treatment reduced disease incidence, severity, juice exudate, and yeasts and mold counts. Regarding the impact of the pattern of UV radiation exposure on fruit postharvest quality so far almost all studies have focused on a single pre-storage treatment before storage. In contrast, the impact of successive fractionated application along storage in fruit composition and physiology is unknown. In Chapter II we studied the influence of fractionated UV-C treatment on the quality and postharvest deterioration of refrigerated strawberry. Fruit (cv. Camarosa) harvested at commercial maturity was subjected to the following treatments i) Control (non-irradiated), ii) UV-C Single-Step: 4 kJ m<sup>-2</sup> UV-C application before storage, iii) Two-Step: two 2 kJ m<sup>-2</sup> UV-C applications after 0 and 4 days of storage and iv) Multi-Step: five 0.8 kJ m<sup>-2</sup> UV-C applications after 0, 2, 4, 6 and 8 days of storage. The fractionated treatments improved fruit quality maintenance relative to single step UV-C treatment. Fruit subjected to 2 or 5 low-dose UV-C applications remained firmer and showed lower postharvest rots incidence and severity. In line with this, the strawberries treated with repeated low dose UV-C scored best in sensory consumer tests in terms of freshness and global acceptability. To understand the mechanisms involved, we subsequently studied the influence of the irradiation pattern in fruit cell wall metabolism (Chapter III). Softening was more effectively retarded in strawberries subjected to 2 or 5 low dose UV-C applications. The delay in softening found in fruit subjected to fractionated UV-C was

more related to the inhibition of  $\alpha$ -xylosidase and  $\beta$ -galactosidase activities, which delayed pectin solubilization. Finally, in Chapter IV we studied the influence of the irradiation pattern on antioxidant accumulation. Fractionated UV-C exposure caused no changes in carotenoids or ascorbic acid but increased the level of reduced glutathione at the end of the storage period. Also, it elicited the accumulation of phenolic compounds. The histochemical evaluation showed that the treatments favored the induction of phenolic acids, especially in the epidermis. This may explain, at least in part, the improved response against postharvest pathogens. In summary, this work sheds light on the identification of the influence of major factors such as the dose, intensity exposure patten has the efficacy of postharvest UV-C treatments in fruits.

***Keywords:*** *Postharvest, irradiation, ultraviolet, berries, softening, antioxidants.*



# **INTRODUCCIÓN**

## **GENERAL**

## 1. FRUTILLA: ORÍGENES DEL CULTIVO Y PRINCIPALES ESPECIES

La frutilla pertenece a la Familia *Rosáceas*, Subfamilia *Rosoideas* (Hummer y Hancock, 2009), Tribu *Potentillea* y género *Fragaria*. Su nombre deriva del latín *fragans* y se relaciona con el aroma característico que presentan sus frutos. Las especies del género *Fragaria* (más de 150) se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo siendo las principales (Tabla 1):

**Tabla 1. Características de las principales especies del género de *Fragaria*.**

<i>Especie</i>	<i>Características</i>	<i>Foto</i>
<p><i>Fragaria chiloensis</i> Duch.</p>	<p>Octoploide. Originaria de Chile y Argentina. Frutos de tamaño medio con pocos aquenios y poco aromáticos.</p>	
<p><i>Fragaria moschata</i> Duch.</p>	<p>Hexaploide. Características del Norte de Europa y Rusia. Frutos globosos, de color variable, con aquenios salientes.</p>	

Tabla 1. Características de las principales especies del género de *Fragaria*. (continuación)

<i>Especie</i>	<i>Características</i>	<i>Foto</i>
<p><i>Fragaria ovalis</i> Rydb: Octoploide.</p>	<p>Originaria de Norteamérica. Fruto de tamaño medio, rosado, blando y con presencia de aquenios hundidos.</p>	
<p><i>Fragaria vesca</i> L.</p>	<p>Llamada frutilla de los bosques y caracterizada por frutos pequeños, semi-esféricos, con numerosos aquenios, de pulpa clara y muy aromática.</p>	
<p><i>Fragaria virginiana</i> Duch.</p>	<p>Octoploide. Originaria de Norteamérica. Frutos de buen tamaño, pero menores que los de <i>F. chiloensis</i>. Aquenios hundidos y color rosa a rojo oscuro, con pulpa blanca y aromática.</p>	

**Tabla 1. Características de las principales especies del género de *Fragraria*. (continuación).**

<i>Especie</i>	<i>Características</i>	<i>Foto</i>
<b><i>Fragaria viridis</i> Duch.</b>	Diploide. Espontánea en Europa y el Cáucaso. Fruto verdoso, firme, aromático y con aquenios hundidos.	

El origen de la frutilla cultivada en la actualidad se remonta al siglo XVIII, cuando un Capitán francés encontró a la *F. chilensis* en un viaje que hizo por las costas de Chile y Perú en los años 1712-1714. Sorprendido por el gran tamaño de éstas en comparación con las especies existentes en Europa, el marino decidió llevar cinco ejemplares a su regreso pero que lamentablemente no lograron fructificar (**Lavin y Mauriera, 2000**). El botánico Duchense logró darse cuenta de que esto era debido a que todas las plantas recolectadas eran femeninas por lo que se inició en la tarea de cruzar *F. chilensis* con otra especie *F. moschata* que dio frutos pero que no producía semillas viables. Luego en 1765 cruzó la *F. chilensis* con *F. virginiana* que tiene flores hermafroditas lo que condujo a producción de frutos grandes, de buen aroma y con semillas viables dando a la frutilla moderna *F. × ananassa* Duch. (**Lavin y Mauriera, 2000**). Actualmente existe un elevado número de cultivares con características diferenciales desde el punto de vista productivo y de calidad de fruto. La diseminación del cultivo de frutilla por casi todo el mundo se debe al desarrollo de variedades con distinto grado de adaptación ecológica y a los modernos sistemas de manejo de cultivo, lo cual hace posible su producción desde las regiones frías hasta las regiones tropicales y subtropicales (**Benavides y col., 2009**). Los genotipos de frutilla se clasifican según su requerimiento de horas de luz en variedades de día corto (son las que responden a fotoperiodos de menos de 14 horas de luz y que presenta generalmente dos periodos de cosecha en el año) y variedades de día neutro (no responden a la cantidad de horas de luz y sólo necesitan temperaturas del suelo por sobre los 12 °C para florecer. Su producción es más homogénea a lo largo de la temporada.

## **2. PRODUCCIÓN DE FRUTILLA**

### **2.1 Producción y comercio mundial**

La producción mundial de frutilla asciende a 8.337.099 Tn (**Tabla 2**) con un crecimiento anual en promedio alrededor del 4 al 5% anual.

*Tabla 2. Producción de frutilla a nivel mundial (FAOSTAT, 2020).*

<b>Año</b>	<b>Producción (Tn)</b>
<b>2013</b>	7.298.004
<b>2014</b>	7.529.827
<b>2015</b>	8.086.324
<b>2016</b>	7.901.882
<b>2017</b>	8.069.134
<b>2018</b>	8.337.099

Los principales países productores son China con 2.955.453 Tn, Estados Unidos 1.296.272 Tn, México 653.369 Tn, Turquía 440.968 Tn y Egipto con 362.639 Tn y (**FAOSTAT, 2020**). Con respecto al comercio internacional el mayor exportador de frutilla es España con 314.256 Tn, seguido por Estados Unidos, México, Países Bajos, y Bélgica. Por su parte el mayor importador de frutilla es Estados Unidos con 165.329 Tn, seguido de Alemania, Canadá, Francia y Reino Unido.

### **2.2 Producción nacional**

El cultivo de frutilla en Argentina tiene una superficie de aproximadamente 1000 ha que producen unas 50.000 Tn de fruta. Las provincias de Santa Fe, Tucumán y Buenos Aires representan alrededor del 70% de la producción total del país. Aproximadamente el 60% de la fruta se consume fresca y el 40% se procesa. De esta última, sólo una pequeña fracción

(1.030 toneladas) se exporta, principalmente a los Estados Unidos (SENASA, 2016). La frutilla se comercializa durante todo el año (Tabla 3) a partir de la regionalización actual. Durante el invierno iniciando en Junio la provisión está a cargo de (Salta y Tucumán); luego ingresan al mercado Corrientes y Santa Fe con Coronda como una de las zonas más importantes a nivel nacional entre los meses de Septiembre y Diciembre. El cinturón hortícola de Buenos Aires comercializa su producción en los periodos Octubre y Diciembre y Febrero-Marzo. Finalmente, la zona sur del país produce entre Diciembre y Marzo.

**Tabla 3. Época de cosecha de frutilla para las principales zonas productivas del país. (Kirschbaum y col. 2017).**

Estación	Provincia	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Invierno	Tucumán												
	Salta-Jujuy												
	Corrientes												
	Santa Fe												
Otoño y primavera	Bs. As. Norte												
Verano	Bs. As. Sur												
	Mendoza												
	Patagonia												
	Tucumán												

- **Tucumán y Jujuy:** En Tucumán, la producción de frutilla, de unas 350 ha, se concentra en el Departamento Lules, habiendo también cultivos de frutilla en los Departamentos Alberdi, Monteros, Famaillá y Tafí del Valle. La cosecha inicia con variedades tempranas en el mes de Mayo. La producción frutillera de Jujuy (~150 ha) se caracteriza es su gran número de productores con relación a la superficie plantada. La actividad se concentra en el Valle de los Pericos, Departamento El Carmen. Otra particularidad de Jujuy es que una parte importante de los productores deja el cultivo de un

año para el otro. La fruta se comercializa en su totalidad en mercados locales, siendo la ciudad de Salta el destino que más volúmenes demanda.

- **Santa Fe:** La Provincia de Santa Fe tiene una superficie de 350 ha plantada con frutilla con rendimientos que oscilan de los 16.000 a los 40.000 kg/ha. La mayor parte (85%) se encuentra concentrada en la zona de Coronda, en la actualidad existen cinco fábricas que procesan la frutilla. Los destinos son varios: heladerías, mermeladas, reposterías, yogures. El cultivo de frutilla en Santa Fe se caracteriza por la amplia difusión de tecnologías, micro y macro túneles. Con ellas logran, por un lado, daños por heladas, granizo y lluvias; y por otro, aumentar la producción de fruta primicia, del rendimiento total, y mejorar la uniformidad de maduración y tamaño de los frutos. En cuanto a los genotipos empleados se suelen plantar múltiples variedades, con el objetivo de tener cantidad y calidad a lo largo de toda la campaña, priorizando la fruta de primicia.

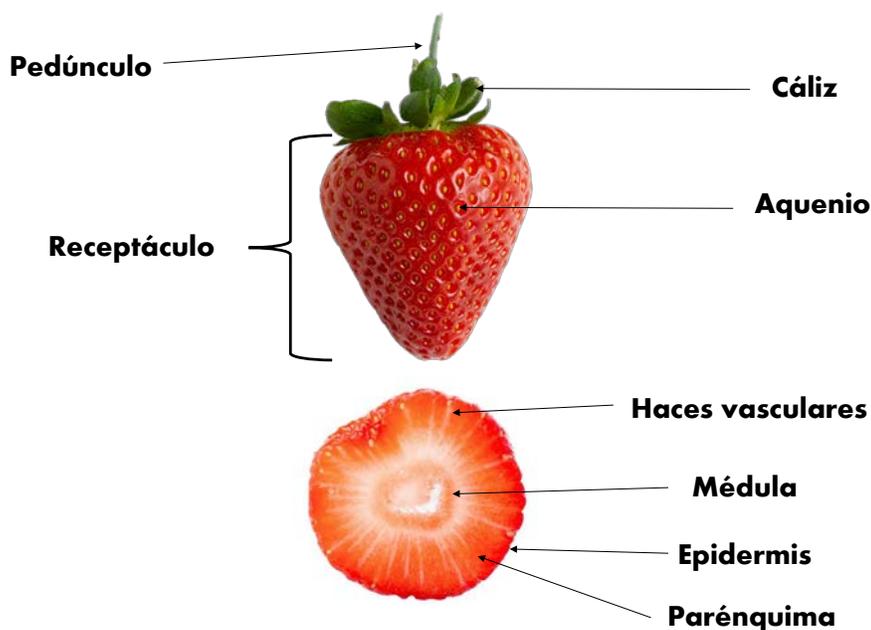
- **Buenos Aires:** El cultivo de frutilla se encuentra concentrado en la zona sur del Área Metropolitana de Buenos Aires, que incluye al cordón hortícola de La Plata, Florencio Varela y Berazategui. En 2017, la superficie cultivada de frutilla en el partido de Florencio Varela estaría por encima de las 80 ha (110 productores), mientras que el cinturón hortícola del Área Metropolitana de Buenos Aires supera ampliamente esa superficie. Florencio Varela se destaca en la zona sur por el cultivo de frutilla. Ésta satisface de manera creciente el mercado de Buenos Aires al ir disminuyendo la llegada de frutilla desde Coronda y Mar del Plata. El sur del AMBA tiene las ventajas por las cercanías del gran mercado consumidor, lo que disminuye los costos logísticos y que la región sea muy competitiva. Aunque la zona no posee los mejores suelos ni recursos hídricos para este cultivo, las ventajas de su localización y la tecnología de producción incorporada han impulsado notoriamente la expansión del cultivo de frutilla. Con unas 130 ha cultivadas, la producción de frutilla de Mar del Plata aporta, desde fin de primavera hasta el otoño. Las plantaciones son bianuales, es decir, las mismas plantas se utilizan durante dos años consecutivos. Los rendimientos del cultivo de frutilla en la región se ubican entre los más altos del país, logrando 90-100 Tn/ha sólo en el primer año de producción.

- **Patagonia:** Sudoeste de la provincia de Río Negro En las localidades de El Bolsón, El Manso, Mallín Ahogado, Lago Puelo y El Hoyo, en la campaña 2016/17, unos 50 productores cultivaron alrededor de 25 ha de frutilla. Esta región se destaca por su producción orgánica de frutilla, la presencia de numerosas fábricas de dulces artesanales y porque se puede cosechar 3 años de la misma planta. Toda la fruta se comercializa en la región. Fueron mayores las cantidades de hectáreas que pasaron de un sistema de producción al aire libre a la utilización de microtúneles.

### 3. MORFOLOGÍA, COMPOSICIÓN, MADURACIÓN, CALIDAD Y POSCOSECHA

#### 3.1. Morfología de los frutos

Los frutos verdaderos derivados de cada pistilo fertilizado son los aquenios frutos secos indehiscentes, uniseminados, de color amarillo, verdoso, rojo o marrón que miden aproximadamente 1 mm de largo y que se encuentran en la superficie insertados en pequeñas depresiones más o menos profundas denominadas criptas. Un fruto de tamaño medio puede tener aproximadamente 150 a 200 aquenios, y en frutos de mayor tamaño puede llegar a tener 400 aquenios. La fracción comestible carnosa es un fruto compuesto denominados botánicamente eterio que se origina a partir del engrosamiento de un pequeño tallo cónico sobre el que se ubicaban los pistilos florales luego de la fecundación (**Figura 1**). Los frutos alcanzan la madurez a los 25 y 35 días después de la fecundación, dependiendo de la variedad y época del año. El receptáculo maduro tiene hasta 5 cm de diámetro de forma achatada, globosa, cónica, reniforme, redondeada, alargada (**Branzanti, 1989**). Su color puede ser rosado, carmín, rojo o púrpura. El receptáculo presenta una gran variedad de sabores, aromas y una textura que caracteriza a cada variedad. En la base del fruto se encuentra el cáliz con sépalos adherentes, libres o reflejos y de color verde, aunque en ciertos casos pueden presentar tintes rojizos.



*Figura 1. Aspectos morfológicos de la frutilla.*

### 3.2. Composición de los frutos

Desde el punto de vista de su contribución a las dietas saludables la frutilla al igual que otros *berries* se considera una excelente fuente de agua, fibra vitamina C y antioxidantes. Con respecto a los componentes que contribuyen en mayor medida a sus propiedades organolépticas se destacan los azúcares y ácidos orgánicos, los compuestos aromáticos y los pigmentos.

- **Agua:** Al igual que en la mayor parte de los productos fruti-hortícolas frescos el agua es el componente mayoritario. Su porcentaje oscila dependiendo de la variedad entre 90 y 94% (Vicente y col., 2014).

- **Fibra:** El contenido de fibra dietaría es aproximadamente 2%. Dentro de ella la fibra insoluble corresponde al 78% del total. Los principales componentes de esta fracción son los polisacáridos estructurales de las paredes celulares primarias del receptáculo (celulosa, hemicelulosa y pectina) y de los aquenios (Marlett, 1994).

*Tabla 4. Composición de frutilla. Valores expresados cada 100 g de producto fresco (USDA, 2020).*

Componente	Cantidad	Unidad
Agua	90-94	g
Energía	32	Kcal
Proteína	0,7	g
Lípidos	0,3	g
Carbohidratos	7,7	g
Fibra	2	g
Azúcares	4,9	g
Calcio	16	mg
Hierro	0,4	mg
Magnesio	13	mg
Fósforo	24	mg
Potasio	153	mg
Sodio	1	mg

**Tabla 5. Composición de frutilla. Valores expresados cada 100 g de producto fresco (USDA, 2020). (Continuación)**

Componente	Cantidad	Unidad
Vitamina C	58,8	mg
Tiamina	0,02	mg
Riboflavina	0,02	mg
Niacina	0,39	mg
Vitamina B-6	0,05	mg
Folato	24	μg
Colina	5,7	mg
Vitamina A, (Eq. retinol)	1	μg
Vitamina E (alfa-tocoferol)	0,29	mg
Vitamina K (filoquinona)	2,2	μg

- **Azúcares:** Los azúcares son los compuestos más abundantes luego del agua. Contribuyen directamente sobre el sabor de los frutos. Si nivel puede variar entre 5 y 10% dependiendo del genotipo, el estado de madurez y las condiciones de cultivo (**Kallio y col., 2000**). En frutilla la glucosa y fructosa representan cerca del 80% del total de los azúcares (**Wrolstad y Shallenberger, 1981**) y cerca de 15% corresponden a la sacarosa. Otros azúcares como xilitol, sorbitol y xilosa también pueden encontrarse en pequeñas proporciones (**Mäkinen y Söderling, 1980**). Los azúcares se incrementan durante el periodo de maduración en forma progresiva. Dado que los frutos no acumulan niveles significativos de almidón la cosecha prematura de los mismos redundaría en una reducción del sabor de los frutos en la madurez de consumo (**Gierson y Kader, 1986**).

- **Ácidos orgánicos:** Los ácidos orgánicos presentes en frutilla son principalmente el cítrico y el málico siendo el primero el más abundante. También se encuentran cantidades

considerables de ácido ascórbico, isocítrico, succínico, oxalacético, glicérico y glicólico. La acidez puede oscilar entre de 0,5 a 1,5% (**Mitchell y col., 1996**).

- **Antioxidantes:** Los *berries* se consideran una de las fuentes más ricas de antioxidantes naturales. Si bien la frutilla contiene ácido ascórbico, glutatión, carotenoides, vitamina E y compuestos fenólicos (**Wang y Jiao, 2000**) se ha demostrado que el último grupo es el predominante (**Wang y Lin, 2000**). Los compuestos fenólicos representan un gran grupo de metabolitos secundarios que contienen uno o más anillos aromáticos con grados variables de hidroxilación, metoxilación y glicosilación. Su contribución a los frutos excede su rol antioxidante e involucra aspectos vinculados con el color (ej. antocianos), sabor (amargor) y sensaciones trigeminales (astringencia) (**Wang y Lin, 2000**). El contenido total de compuestos fenólicos en frutilla se ubica entre 0,05 y 0,15%. Se trata de un grupo muy complejo y amplio siendo los más relevantes en *berries* los ácidos fenólicos, los flavonoides como las antocianinas y los taninos (elagitaninos) (**Rekika, y col., 2005**).

El ácido ascórbico es un compuesto hidrosoluble que posee importantes funciones metabólicas. Dado que no puede ser sintetizado por el hombre es considerado una vitamina (**Perkins-Veazie, 1995**). El contenido de ácido ascórbico en frutilla es particularmente elevado (58 mg/100 g) si se lo compara con otros frutos, aunque los niveles oscilan dependiendo de la variedad, estado de madurez y condiciones de cultivo (**Badejo y col., 2009; Li, y col., 2009; Zechmann y col., 2011**). Los carotenoides son el grupo de antioxidantes lipofílicos más común, aunque en frutillas su nivel es limitado (**Marinova y Ribarova, 2007; Britton y col., 2012**). Los tocoferoles y tocotrienoles son más prevalentes en frutales ricos en grasa, pero se encuentran en niveles bajos en *berries* (**Vicente y col., 2014**).

- **Pigmentos:** El color de la frutilla madura está dado por la presencia de antocianinas. Son derivados fenólicos pertenecientes al subgrupo de los flavonoides que pueden encontrarse acetilados y glicosilados. Las antocianinas de frutilla se derivan mayoritariamente de la pelargonidina (**Mazza y Miniati, 1993**), raramente se encuentran en forma libre, ya que forman glicósidos. Los azúcares presentes pueden incluir a la glucosa,

ramnosa, galactosa y arabinosa (**Vicente, 2004**). La principal antocianina presente en frutilla es el pelargonidín-glucósido (**Manning, 1993**).

- **Compuestos volátiles:** El aroma característico de la frutilla está dado por la mezcla de varios tipos de moléculas volátiles. Las diferentes fuentes consideran a los esteres metílicos y etílicos del ácido butanoico esteres del ácido hexanoico y linalol. Al analizarse trabajos que evalúan la preferencia de consumidores muestran con mejor puntaje a variedades que poseen más cantidad de esteres ácido hexanoico y decalactonas (**Du y col., 2011**). El furaneol derivado del metabolismo de la arabinosa ha sido también descrito como un compuesto volátil relevante en la frutilla (**Zabetakis y col., 1999; Jimenez-Garcia y col., 2013**).

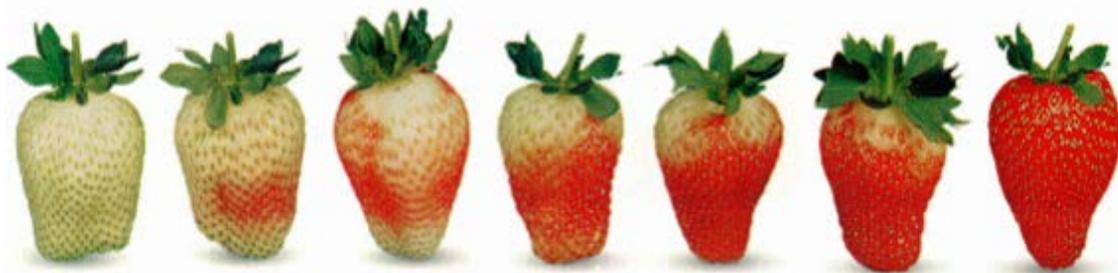
### **3.3. Fisiología de la maduración**

La maduración involucra una compleja serie de cambios bioquímicos y fisiológicos, genéricamente regulados que finalizan con la obtención de un órgano atractivo desde el punto de vista de su color, sabor, textura y aroma y por tanto que facilita la dispersión de las semillas. Ésta es de hecho la función evolutiva del proceso (**Giovannoni, 2001; White, 2002**). Estudios genómicos muestran que cerca del 15% de los genes expresados muestran cambios diferenciales durante el proceso de maduración de frutilla (**Sanchez Sevilla y col. 2017**).

La frutilla es un fruto con una elevada tasa respiratoria ( $50-100 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ ) (**Mitchell y col., 1996**) y por ello es altamente perecedera. Desde el punto de vista de su patrón de maduración es un fruto no climatérico. Esto implica por un lado que la tasa respiratoria no muestra un pico durante el desarrollo de los frutos, sino que presenta una tendencia decreciente (**Brady, 1987**). El rol del etileno en la regulación del proceso de maduración es acotado. Sin embargo, la hormona posee algunos efectos como cierta aceleración del color (**Pech y col., 2018**) y la inducción de genes asociados con el proceso de ablandamiento (**Giovannoni, 2001**). Por otra parte, dado que estimula el desarrollo de hongos deteriorantes, su presencia en la poscosecha es indeseable (**Giovannoni, 2001**). Con relación a la producción de la hormona, la frutilla muestra niveles muy bajos ( $<0,1 \mu\text{L kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ ) (**Kader, 2007**). La regulación del proceso de maduración se ha asociado en mayor

medida con los niveles de ácido abscísico (ABA) y auxinas. El ABA es sintetizado en los cloroplastos y otros plástidos y muestra una acumulación durante la maduración en los aquenios, aunque pocos cambios en el receptáculo (**Archbold y Dennis, 1984**). **Jiang y Joyce (2003)** encontraron que el tratamiento con ABA provocó el incremento del color rojo debido al aumento de contenido de antocianinas y redujo la firmeza. Las auxinas incluyen diferentes compuestos indólicos y que poseen una cadena alifática lateral derivados del aminoácido triptófano. La más común es el ácido 3-indol acético (AIA). En la frutilla las semillas en desarrollo en el interior de los aquenios producen auxina que promueve en etapas iniciales de desarrollo el crecimiento de los frutos. Posteriormente durante la maduración el contenido de auxinas desciende y se ha sugerido que este descenso elimina la represión de genes necesarios para llevar adelante el proceso de maduración (**Pech y col., 2018**). Los principales cambios acompañan la maduración son:

- **Desarrollo de color:** Es el cambio más evidente (**Figura 2**). Se debe a la acumulación de antocianinas en una ruta metabólica regulada por la enzima fenilalanina-amonioliasa. (**Cerezo y col., 2010**). El pelargonidin-3-glucósido y el cianidin-3-glucósido son casi exclusivamente responsables del color rojo de la frutilla (**Nunes y col., 2006**). Ambos pigmentos aumentaron significativamente desde la cosecha temprana hasta la cosecha avanzada en frutos maduros en el campo (**Figura 2**). **Wrolstad y col., (1990)** informaron que la diferente proporción de pelargonidina y cianidina esos dos pigmentos afectan el color de diferentes variedades de frutilla. **Perkins-Veazie, (1995)** indicaron que los frutos de frutilla maduran de etapas de color blanco a rojo en 5 a 10 días en el campo, dependiendo de la temperatura del aire, y **Ménager y col., (2004)** informaron que las frutillas progresan del estado medio rojo a los tres cuartos rojos dentro de 2 a 3 días en la planta.



*Figura 2. Serie de maduración de frutilla.*

- **Desarrollo de sabor y aroma:** Durante la maduración los frutos importan sacarosa proveniente de la actividad fotosintética de las hojas. La enzima invertasa participa en su hidrólisis de esta para generar glucosa y fructosa que como se mencionó con anterioridad representen los principales azúcares determinantes del sabor de los frutos. Los azúcares aumentan marcadamente durante la maduración por tal motivo cuando mayor tiempo permanezcan los frutos en la planta antes de la cosecha mayor será su dulzor (Reis y col., 2020). En línea con la acumulación de azúcares se observa un incremento en el contenido de alcanos, ácidos grasos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y furanonas. Muchos de los cuales sirven como precursores de la síntesis de compuestos volátiles (Zhao y col., 2020).

- **Cambios texturales durante la maduración:** El ablandamiento es un cambio determinante en la aceptación de los frutos por parte de los consumidores. De todos modos, en ciertos frutos como es el caso de los *berries* ocurre en forma tan intensa y rápida que puede limitar la capacidad de almacenamiento e incrementar el ataque de hongos (Perkins-Veazie, 1995). El proceso de pérdida de firmeza se asocia en buena parte con la degradación de la estructura y composición de la pared celular por acción conjunta de numerosas enzimas.

### 3.4. **Calidad, cosecha y acondicionamiento a campo de la frutilla**

- **Índices de calidad de frutilla:** Los principales atributos de calidad de frutilla son el tamaño, la uniformidad de forma, el desarrollo de color parejo y completo, la presencia de un cáliz completo verde y turgente sin manchas y la ausencia de daños mecánicos en el receptáculo. Desde el punto de vista del *flavor* contribuyen factores de calidad el aroma atractivo y con un elevado contenido de sólidos solubles (7%) y una acidez equilibrada

(menor a 0,8%). (Mitcham y col., 2002). Con respecto a la textura los frutos deben ser firmes, pero jugosos.

- **Cosecha y acondicionamiento:** La cosecha es de gran importancia ya que de ella dependerá en gran medida la vida útil de la fruta. El índice de madurez utilizado por excelencia es el color superficial. Así, los frutos se cosechan cuando presentan 75% o más de la superficie roja. Dado que la maduración ocurre en el cultivo en forma diferente para los distintos frutos, la cosecha debe ser escalonada. Cualquier factor que tienda a producir daños como magulladuras o exceso de manipuleo en la cosecha favorece la propagación de enfermedades. En ese sentido, se deben tener en cuenta una correcta planificación y preparación e higienización de todos los materiales necesarios (Morales y col., 2017). La cosecha se realiza a mano, tomando la fruta por el pedúnculo que se corta de 0,5 a 1 cm desde el cáliz, doblando y tirando suavemente para quebrarlo. Se debe evitar el exceso de presión con los dedos sobre el receptáculo. Para venta en fresco se debe dejar el cáliz adherido. Los cosecheros no deben juntar las frutas en las manos ni presionarlas ya que provocan lesiones que disminuyen la calidad y conservación (Caminiti, 2015). En las cajas cosecheras no deben colocarse más de dos o tres capas de fruta. Debe evitarse que los frutos sufran cortaduras con los bordes de los envases. Normalmente una persona entrenada cosecha entre 150 y 200 kg en una jornada. Se debe eliminar la fruta sobremadura, dañada por hongos, insectos o deformada, enterrándola en lugares apartados de la plantación, pues los hongos crecen y esporulan produciendo gran cantidad de inóculo. Se debe tener una protección del calentamiento por el sol y hacer un traslado rápido del campo al cuarto de enfriado dentro de la siguiente hora. Por todo este resulta muy importante la capacitación del personal.

### **3.5. Principales problemas de poscosecha y estrategias comunes para reducirlos**

Las pérdidas poscosecha de frutas y hortalizas frescas pueden alcanzar frecuentemente niveles de 25-50% (Kader y Rolle 2004). Los niveles superiores de este rango no son poco comunes para frutas con alta tasa respiratoria y delgada piel como la frutilla. Las principales causas de deterioro son la deshidratación excesiva, el daño mecánico, las podredumbres y la sobre maduración.

i) Deshidratación: La frutilla es muy sensible a la pérdida de agua debido a que se trata de un fruto relativamente pequeño y sin marcada deposición de ceras superficiales. La deshidratación provoca una pérdida de firmeza y en una reducción de brillo superficial.

ii) Daño mecánico: Los daños mecánicos reducen marcadamente la vida útil de los frutos por diferentes motivos. En primer lugar, constituyen una vía de ingreso a microorganismos responsables de podredumbres. Asimismo, favorecen la deshidratación al reducir la resistencia de los tejidos al flujo de vapor de agua. Desde el punto de vista comercial, los frutos que presenten heridas resultarán menos aceptados por los consumidores. Asimismo, el daño mecánico estimula la respiración e incrementa su producción de etileno lo que conspiran contra una vida útil prolongada (**Kader, 2002**). Las consecuencias de las heridas ocasionadas por más pequeñas que sean suelen ponerse en manifiesto en la poscosecha cuando los frutos desarrollan repetidamente podredumbres. Un pequeño número de frutos heridos resultará en un aumento sustancial en el ataque microbiano y en la contaminación de frutos adyacentes.

iii) Podredumbres: Una de las principales causas del deterioro de la frutilla son los hongos de poscosecha. El ataque o pudrición de la frutilla es debido mayormente a *Botrytis cinerea* o moho gris, patógeno capaz de atacar a los frutos en el campo y permanecer latente hasta la poscosecha. Los frutos con podredumbre por *Botrytis* suelen mostrar un micelio blanco que se torna gris cuando se produce la esporulación. Si bien lo hace lentamente, este hongo continúa creciendo aún a temperaturas tan bajas como 0 °C. Otro agente causal de podredumbres en frutilla es *Rhizopus stolonifer*, aunque los daños suelen ser menores si se refrigera convenientemente a los frutos.

iv) Sobre maduración: En muchos casos la causa principal de deterioro de los frutos es la sobre maduración. Los frutos sobre maduros presentan color oscuro asociado con una acumulación elevada de antocianos y con un aumento del pH. Los frutos sobre maduros también suelen presentar defectos en el cáliz (pardeamiento, degradación de clorofilas) y una pérdida de brillo superficial y ablandamiento excesivo que los hace menos aceptados por los consumidores.

El control del deterioro de los frutos puede llevarse adelante mediante el empleo de diferentes tecnologías. A continuación, se resumen las principales estrategias disponibles en el caso de *berries* frescos.

- *Refrigeración*. La reducción de la temperatura al menor valor posible por encima de la congelación es la mejor estrategia para maximizar la vida útil. A esto se suma un adecuado control de la humedad. Los frutos deben enfriarse rápido luego de la cosecha. La frutilla se adapta bien a procesos de pre enfriado con aire forzado. Contrariamente, el enfriamiento con agua o vacío no son recomendados. La frutilla es un fruto no sensible al frío por lo que se recomienda su almacenamiento a 0 °C. Con respecto a la humedad relativa al igual que para otros frutos los niveles óptimos de ubican cerca de 90%. Deben evitarse oscilaciones que favorezcan la deposición de agua libre sobre la superficie de los frutos ya que favorecería el incremento de podredumbres. Más allá de los claros beneficios del correcto manejo de la temperatura aún en condiciones óptimas la poscosecha rara vez excede los 7 días. Por ello en caso de pretenderse almacenamientos más prolongados debe recurrirse al empleo de tecnologías complementarias.

- *Atmosferas modificadas (AM)*: Las atmósferas modificadas muestran buena respuesta en los *berries*. Los niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> recomendado para frutilla son 5% O<sub>2</sub> y 15% de CO<sub>2</sub> (Mitcham y col., 2002). De todas maneras, comercialmente no se utilizan en demasía dado que se requiere inyección de CO<sub>2</sub> para lograr esos niveles si se respeta el manejo de temperatura antes mencionado lo que aumenta su costo y dificultad de empleo.

- *Otras tecnologías de poscosecha*. Diversas tecnologías han sido evaluadas para complementar la refrigeración y extender la vida útil de frutilla. Dentro de ellas se puede mencionar los tratamientos térmicos de alta temperatura (Vicente y col., 2006; Langer y col., 2018), el ozono en agua (Nayak y col., 2020) los tratamientos con calcio (Niazi y col., 2020), la aplicación de recubrimientos (Yuan y col., 2020; Xu y col., 2020), le tratamientos con inductores de respuestas de defensa como el jasmonato (Han y col., 2019; Zuñiga y col., 2020), quitosano o ácido salicílico (El-Mogy y col., 2019; Riaz y col., 2020; Nguyen y col., 2020), y la irradiación con radiaciones ionizantes (Barkaoui y col., 2020; Yoon y col.,

2020) UV (**Forges y col., 2020;** ), o incluso visible (**Xu y col., 2014; Luksiene y Buchovec, 2019**). La mayor parte de los tratamientos han reportado buenos resultados a nivel experimental, pero no han avanzado en forma comercial. Esto puede asociarse con diferentes causas a veces concurrentes:

*i- Dificultades de aplicación a gran escala.* Por ejemplo, el calcio o el ozono disueltos requieren la pulverización o inmersión y en poscosecha los *berries* se manejan en seco (**Kader, 2002**).

*ii- Condiciones óptimas de tratamiento cercanas a las que inducen daño de los frutos.* Por ejemplo, en los tratamientos térmicos de alta temperatura con aire aumentos de 1 o 2 °C pueden resultar la diferencia entre daño de los frutos o una muy buena respuesta) y puede favorecerse la deshidratación (**Vicente y col., 2006; Figueroa y col., 2012**).

*iii- Inconsistencias en las respuestas a los tratamientos.* Esto suele ser común en tratamientos que dependen casi exclusivamente la inducción de respuestas biológicas en los frutos como por ejemplo los bioestimulantes (**Romanazzi y col., 2013**).

*iv- Dificultades logísticas para el empleo de los tratamientos a nivel comercial:* La irradiación por rayos gamma ha mostrado buenos resultados a nivel experimental (**Reddy y col., 2018**) pero requiere para su aplicación comercial contar con plantas habilitadas que se encuentran muchas veces a cientos de kilómetros de los sitios de producción. Esto implica pérdida de tiempo, manejo abusivo de temperatura y costos extra en transporte. En este punto la radiación ionizante se diferencia sustancialmente de la UV-C que muestra mucho menos restricciones para su empleo y que potencialmente puede adaptarse a galpones de acondicionamiento de fruta.

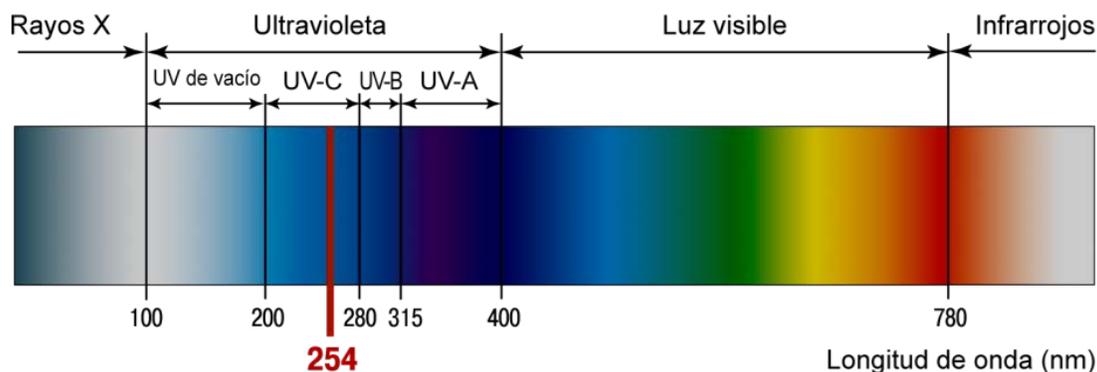
*v- Falta de comprensión de los factores que afectan la eficacia de los tratamientos.* Esto ocurre para diversos métodos especialmente para los más recientes y es el caso para los tratamientos UV que se estudian en la presente tesis. Para ellos aún se desconoce el impacto

de variables centrales de proceso como intensidad, dosis, modo de procesado o forma de exposición a la radiación posee en muchos productos.

#### 4. USO DE LA IRRADIACIÓN UV-C EN LA POSCOSECHA DE FRUTAS FRESCAS COMO TRATAMIENTO PARA MANTENER LA CALIDAD

##### 4.1 Aspectos generales de la radiación ultravioleta

Los tratamientos con radiación ultravioleta involucran a la región del espectro electromagnético con longitudes de onda entre 100 y 400 nm (**Figura 3**). Esta región del espectro puede a su vez subdividirse en UVA, UVB, y UVC. Los rayos ultravioletas suelen producirse frecuentemente empleando lámparas de vapor de mercurio (**Pierce, 2006**).



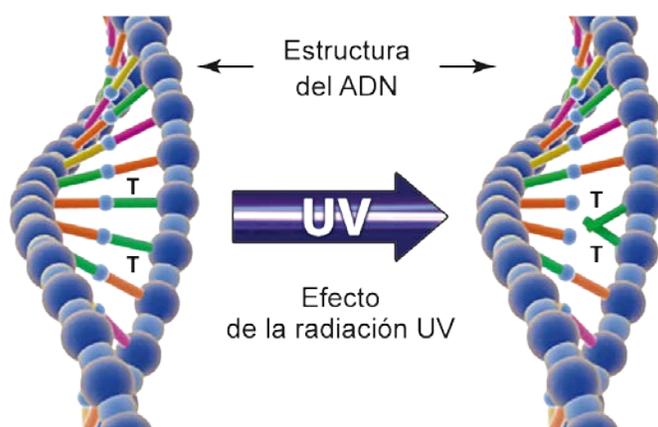
*Figura 3. Diferentes zonas del espectro de radiaciones no ionizantes*

-Radiación ultravioleta A (UV-A): se encuentra ubicada entre los 400-320 nm. Se han realizados pocos estudios en poscosecha, tiene más interés en cultivo ya que es la que mayoritariamente llega del sol y afecta al desarrollo vegetal (**Morales y col., 2010**). Actualmente, los experimentos de atenuación de campo son la fuente de información más confiable sobre los efectos de los rayos UV-A. Las respuestas comunes de las plantas a los rayos UV-A incluyen efectos tanto inhibidores como estimulantes sobre la acumulación y morfología de la biomasa. Los efectos de los rayos UV-A incluyen efectos frecuentemente

inhibidores de la acumulación de biomasa, aunque estimulante de ciertas facetas del metabolismo. Estos efectos pueden a su vez variar dependiendo del órgano considerado. (Verdaguer y col., 2017)

-Radiación ultravioleta B (UV-B): esta se ubica en el rango de los 320-280nm. Los tratamientos con UV-B retrasan la maduración y la senescencia. También se ha demostrado que la irradiación UV produce antioxidantes y acumulación en algunos productos (Jansen y col., 2010). Algunos frutos expuestos al sol que reciben una mayor luz UV-B suelen mostrar un mayor nivel de antioxidantes que fruta desarrollada en zonas oscuras del canopeo (Sun y col., 2014). Aumentado contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en tomates sometidos a irradiación UV-B después de la cosecha (Castagna y col., 2014)

Radiación ultravioleta (UV-C): esta se encuentra ubicada entre los 200 y 280 nm. Se destaca por su elevado poder germicida. Esta radiación es la que más absorben el ADN, el ARN y las proteínas. Se destaca por su elevado poder germicida directo. Este efecto se basa en buena parte en la absorción de fotones de las moléculas de ADN Y ARN. La reacción fotoquímica provoca la dimerización de los enlaces del ADN y el ARN, que inhibe la capacidad de los microorganismos de replicarse. En este rango se conoce es reconocido por su poder germicida dada su alta efectividad para la desinfección de bacterias y virus.



**Figura 4. Mutaciones inducidas por la radiación UV en el ADN, Adaptado de LIT, tecnología ultravioleta. (2017)**

## **4.2 Principales efectos de la irradiación UV-C en poscosecha de frutos**

La radiación UV-C se ha evaluado en la poscosecha de frutas y hortalizas con diferentes objetivos dentro de los que se destacan a) Control de enfermedades poscosecha, b) la inducción de antioxidantes y/o antimicrobianos, c) el control de la maduración y la senescencia y d) la reducción de algunos desordenes fisiológicos

### **a.) Control de enfermedades de poscosecha.**

Los primeros estudios realizados con radiación UV en frutos perseguían la descontaminación superficial por vía seca (**Liu y col., 1993; Nigro y col., 2000**). Esto se asocia con varios efectos mediados con la radiación UV-C dentro de los que se destaca en primer lugar su poder germicida. De todos modos, varios estudios posteriores mostraron que el modo de acción de estos tratamientos cuando se aplican en vegetales metabólicamente activos excede la acción ante dicha, e implica la activación de respuestas naturales de defensa en los frutos. Un efecto observado como consecuencia de la exposición a la radiación UV en vegetales fue la inducción de antioxidantes (**Gardner y Shama, 2000**) la mejora de la tolerancia al estrés en general (**Santos y col., 2013**) o la inducción de enzimas de defensa (**Baka y col., 1999; Shama y Alderson, 2005**).

**b) Inducción de antioxidantes y-o antimicrobianos.** Poco tiempo luego de inducirse la aplicación de tratamientos UV-C en productos metabólicamente activos se observó que los mismos respondían a la fuente externa de radiación induciendo la acumulación de compuestos antimicrobianos (**Ben Yehoshua y col., 1992; Mercier y col., 1993**) y antioxidantes (**Barka y col., 2001; Marqueni y col., 2002; Cantos, y col. 2002**). A partir de ello se sugirió que estos tratamientos podían considerarse una estrategia para mejorar las defensas y el poder nutracéutico de lo vegetales (**González-Aguilar y col., 2007; Perkins-Veazie y col., 2008; Romanazzi, y col., 2016**).

**c.) Control de la maduración y senescencia.** Otro efecto descrito como consecuencia de la exposición a la radiación UV es el retraso en la maduración y senescencia. Así en

algunos frutos se observó retraso en el ablandamiento principalmente y en la degradación de la clorofila en tejidos verdes (**Lamickanra y col., 2005; Darré y col., 2017**). Los efectos en la coloración son variables dependiendo del grupo químico considerado. Mientras que la radiación UV provoca en muchos casos la activación de la biosíntesis de las antocianinas (**Baka y col. 1999; Cantos y col., 2002; Perkins-Veazie y col., 2008**), no suele inducir sustanciales cambios en los carotenoides (**Maharaj y col., 1999**).

**d) Control de desórdenes fisiológicos.** Algunos trabajos muestran que la irradiación UV-C se puede reducir el daño por frío (**Vicente, y col., 2005; González-Aguilar, y col., 2005; Pongprase y col., 2011**).

#### **4.3 Tratamientos UV-C en poscosecha ¿qué factores afectan su eficacia?**

Los aspectos antes mencionados si se consideran en su conjunto parecieran indicar que los tratamientos UV-C muestran un gran potencial y un elevado abanico de posibilidades en términos de los posibles efectos que pueden lograrse para reducir el deterioro poscosecha de frutas y hortalizas. De todos modos, estas respuestas rara vez pueden lograrse. Por otra parte, el grado en el que se manifiestan depende marcadamente del producto vegetal y las condiciones de irradiación empleadas (**Rivera-Pastrana y col., 2007; Mditshwa y col., 2017; Li y col., 2020**). Con respecto al producto se han descrito diferencias muy grandes dependiendo de la especie vegetal, de la variedad empleada y del estado de madurez. (**Li y col., 2020**). El nivel de procesamiento podría especularse como otra variable que afecte tanto el tipo como el grado de respuestas. Al respecto algunos trabajos apoyan esto, focalizando en la capacidad inductora de compuestos antioxidantes varios estudios concluyeron con claridad que a mayor grado de procesamiento el nivel de respuesta a la radiación se exagera. (**Surjadinata, y col., 2017**). De todos modos, desde el punto de vista del efecto en la calidad integral de los productos muy pocos trabajos han analizado el impacto del grado de procesamiento en la eficacia de los tratamientos UV-C. El otro de factores determinantes de la eficacia de los tratamientos UV-C son las condiciones y forma de irradiación. Al respecto al revisar la literatura resulta llamativo que el impacto que ejercen algunas variables que podrían ser relevantes no se han explorado aún. Casi la totalidad de los trabajos publicados hasta la fecha han focalizado en comprender la influencia de la dosis de radiación como

principal variable de eficacia (Civello y col., 2006; Li y col., 2020). Un factor que *a priori* también pareciera central como la intensidad de radiación no ha recibido prácticamente atención lo cual es al menos llamativo. De hecho, aun en la actualidad muchos trabajos solo informan dosis total de radiación sin expresar la intensidad de la misma o el tiempo total de tratamiento. Esto posee interés tanto fundamental y tecnológico. En lo básico porque es posible hipotetizar que esta variable afecte la efectividad de los tratamientos y desde una perspectiva práctica porque el empleo de una alta intensidad para una misma dosis puede traducirse en un acortamiento del tiempo de proceso. Otro aspecto que prácticamente no se ha explorado el patrón de irradiación al que se someten los frutos. Al respecto, casi la totalidad de los estudios realizados a la fecha han basado sus tratamientos en una exposición única antes del almacenamiento. Prácticamente no existen trabajos que exploren diferentes formas y momentos de irradiación UV-C en vegetales. Este es un aspecto que se ser estudiado para comprender el modo en que el uso de este tipo de tecnologías influye en el tipo de respuestas que se desencadenan en los frutos. En la presente tesis se decidió avanzar en elucidar los siguientes interrogantes:

i) ¿Cómo influye el grado de procesamiento en la eficacia de tratamientos UV-C en frutilla y cuáles son las condiciones más apropiadas de combinación de dosis e intensidad de radiación? (**Capítulo I**).

ii) ¿Qué efectos posee la aplicación repetida en bajas dosis de radiación UV-C (patrón de exposición) en la efectividad de los tratamientos para mantener la calidad de frutilla refrigerada (**Capítulo II**)?

iii) ¿Cómo afecta el patrón de exposición a la radiación UV-C el proceso de desensamblaje de pared celular y el ablandamiento? (**Capítulo III**).

iv) ¿Cuál es el impacto del patrón de exposición a la radiación UV-C en la inducción de compuestos antioxidantes y en el control de enfermedades de poscosecha? (**Capítulo IV**)

## **OBJETIVO GENERAL**

Comprender los factores que afectan la eficacia de tratamientos poscosecha UV-C de frutillas empleados para retrasar el deterioro y reducir las pérdidas y desperdicios.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

### ***CAPÍTULO I***

*Determinar la influencia de la dosis, intensidad radiación y grado de procesamiento de los frutos en la eficacia de tratamientos UV-C para mantener la calidad y vida poscosecha de frutilla mínimamente procesada.*

### ***CAPÍTULO II***

*Establecer la eficacia de tratamientos UV-C distribuidos a lo largo del periodo poscosecha, respecto de tratamientos UV-C convencionales de una única exposición antes del almacenamiento, para mantener la calidad de frutilla refrigerada.*

### ***CAPÍTULO III***

*Comprender los efectos del fraccionamiento de la radiación UV-C sobre el metabolismo de paredes celulares y textura de frutilla.*

### ***CAPÍTULO IV***

*Determinar los efectos del fraccionamiento de la radiación UV-C sobre el desarrollo de podredumbre y acumulación superficial de antioxidantes en frutilla.*



## CAPÍTULO I

**Influencia de la dosis, intensidad de radiación UV-C  
y grado de procesamiento en el deterioro de frutilla  
mínimamente procesada.**

## **I.1 INTRODUCCIÓN**

### **I.1.1. Potencialidad de vegetales mínimamente procesados para facilitar el consumo de frutas y hortalizas en estado fresco**

El consumo de hortalizas y frutas tiene importantes beneficios para la salud. Son alimentos que proveen vitaminas, fibra alimentaria y agua, y además su aporte calórico es en general, significativamente menor al de otros alimentos (**Slavin y Lloyd, 2012; Martín y col., 2013**). Las frutas y hortalizas proveen además numerosos fitoquímicos no nutricionales que han mostrado contribuir a la prevención de enfermedades crónicas y degenerativas (**Nile y Park, 2014; Singh y col., 2020**). A pesar de ello, en Argentina el consumo de vegetales sólo alcanza a la mitad de los 400 gramos por día y por persona recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se ha sugerido que una de las causas de ello es el tiempo relativamente prolongado que requiere la preparación de estos alimentos. Como alternativa de mayor conveniencia de empleo y en los últimos años ha incrementado la participación en el mercado de vegetales mínimamente procesados (VMP) listos para consumir (**Rotondo y col., 2008**). Este grupo engloba hortalizas o frutas frescas, limpias, peladas enteras y/o cortadas pero que aún conservan la característica de producto fresco y la actividad metabólica (**Ma y col., 2017**).

### **I.1.2. Generalidades del proceso de elaboración**

La elaboración de frutas y hortalizas mínimamente procesadas requiere de una serie de etapas que garanticen un producto inocuo y de elevada calidad organoléptica y nutricional (**Artés y col., 2010**):

**Selección de variedad y cosecha:** Los VMP deben provenir de variedades adecuadas si se desea garantizar un producto con calidad superior y vida útil prolongada. El grado de madurez depende del producto considerado. En muchas hortalizas se realiza en función del tamaño. En el caso de frutilla la cosecha debe realizarse cuando la madurez es plena y el color superficial completamente rojo. Asimismo, ya desde el momento de cosecha es muy

importante maximizar los recaudos relativos a las condiciones higiénicas y evitar golpes y la exposición a altas temperaturas de la materia prima (**Rodríguez y col., 2015**).

**Transporte, recepción y control de calidad:** Uno de los factores más importantes en esta etapa es la rapidez para llegar a la planta de procesamiento. En lo posible deben emplearse transportes cubiertos, ventilados y si es posible refrigerados. Asimismo, es vital evitar el daño mecánico en todas las operaciones de carga y descarga. La evaluación de la calidad de la materia prima suele contemplar aspectos variables tales como color, tamaño, firmeza, ausencia de podredumbres daño mecánico y otros defectos. Es importante asegurar que los primeros lotes en llegar sean los primeros en ser procesados (**do Nascimento Nunes y col., 2014**).

**Clasificación, selección, limpieza y desinfección:** En esta etapa el material puede descartarse dependiendo la existencia de alteraciones de color, forma, tamaño u otros defectos. Debe evitarse introducir frutos que presenten pudriciones, magulladuras, grietas u otras alteraciones. Esta tarea puede llevarse adelante en forma manual por inspección de operadores entrenados o bien a través de equipos de clasificación. La limpieza procura eliminar restos de materias extrañas o suciedad en la superficie de los productos (**Parzanese, 2012**). El proceso se realiza normalmente con agua a la que se adiciona algún agente desinfectante que reduce la carga superficial y evita la contaminación del agua. El más comúnmente utilizado es el hipoclorito de sodio, aunque también puede emplearse ácido peracético (**Artés-Hernandez y col., 2009**). Otro desinfectante empleado, pero en mucho menor medida es el ozono. Si bien posee una gran capacidad antimicrobiana es corrosivo, más difícil de mantener a una concentración fija y resulta tóxico en fase gaseosa en concentraciones muy bajas (**Karaca y Velioglu, 2020**). Finalmente, una alternativa menos común, pero que se ha comenzado a utilizar en algunos casos es el agua electrolizada (**Giacosa y col., 2019; Turantaş y col., 2019; Graça y col., 2020**).

**Cortado, lavado y escurrido:** En esta etapa del proceso se define el tipo de corte. El procesamiento mínimo de frutilla debe implementar un programa de limpieza, que garantice la eliminación de pedúnculos. Luego del cortado se realiza un segundo lavado que remueve

azúcares, y otros nutrientes de las superficies cortadas, y que pueden promover la multiplicación microbiana e inducir el pardeamiento en el caso de los componentes fenólicos. Normalmente se utiliza agua fría para minimizar el metabolismo vegetal. El agua puede contener desinfectantes como el cloro, pero dependiendo de las restricciones impuestas por los países de destino puede en algunos casos requerirse una remoción de los productos de la cloración. Luego de esta etapa debe eliminarse el exceso de agua que afectaría la vida útil del producto al promover el desarrollo de microorganismos. Dependiendo del producto que se considere puede realizarse empleando corriente de aire o bien una centrifugación suave (Parzanese, 2019; Denoya y col., 2020). Finalmente, se procede al envasado. El material utilizado en esta etapa debe ser de grado alimenticio, para evitar la contaminación de productos químicos del empaque al producto. Existen múltiples tipos de formato de embalaje, desde una bolsa de plástico de polietileno estándar hasta contenedores de plástico rígido. Si se utiliza el empaque de atmósfera modificada (MAP), hay que asegurar que el empaque sea apropiado para mantener la atmósfera intacta (McMillin, 2020). En el caso de la frutilla dada su baja tolerancia a la compresión y su elevada susceptibilidad al daño mecánico se emplean envases rígidos.

### **I.1.3. Calidad, vida útil y manejo poscosecha de productos mínimamente procesados**

La calidad de los vegetales frescos cortados está definida por su apariencia fresca, la textura, sabor y aroma y carga microbiológica. Los principales factores involucrados en el deterioro poscosecha de los vegetales frescos mínimamente procesados se describen en la **Tabla I.1.**

**Tabla I. 1 Principales causas de deterioro en vegetales mínimamente procesados. (Adaptado de Rodoni, 2015).**

Atributo	Modificaciones observadas
Sabor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pérdida de azúcares y acidez por respiración exacerbada.</li> <li>- Acumulación de compuestos amargos como consecuencia del daño mecánico</li> </ul>
Textura	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Ablandamiento: Derivado de la reducción en la turgencia por deshidratación o bien por la acción de enzimas endógenas sobre las paredes celulares.</li> <li>-Endurecimiento: Resultante de la excesiva deshidratación. Por la inducción de procesos de lignificación o suberización.</li> </ul>
Color	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Pardeamiento: Derivado de la formación de pigmentos marrones por polimerización de quinonas resultantes de la oxidación enzimática de compuestos fenólicos.</li> <li>-Degradación de pigmentos: Catabolismo de clorofilas, oxidación o exudado de antocianinas y otros pigmentos hidrosolubles.</li> </ul>
Valor nutricional	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Pérdida de compuestos antioxidantes, principalmente algunos fenoles y ácido ascórbico por oxidación química y/o por acción enzimática.</li> </ul>
Alteraciones microbiológicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Crecimiento microbiano favorecido por el daño mecánico de los tejidos que elimina barreras naturales y libera nutrientes.</li> </ul>

La perecibilidad de los frutos se incrementa aún más cuando son sometidos al procesamiento mínimo, que, si bien los deja listos para consumir, exagera su susceptibilidad a alteraciones microbiológicas, y acelera las reacciones de degradación (**Soliva-Fortuny y col., 2003, Ma y col., 2017**). Esto se debe a que eliminan barreras naturales de protección, induce un daño mecánico en el vegetal que si bien se procura minimizar suele ser significativo. Por ello es fundamental en estos productos realizar un muy ajustado manejo poscosecha. Para ello se cuentan con diferentes herramientas de manejo:

**Refrigeración:** Es la tecnología más usada y efectiva para mantener la vida útil de los productos mínimamente procesados. Mantener la temperatura baja reduce la tasa respiratoria y velocidad de desarrollo microbiano, evita la deshidratación, reduce la producción y sensibilidad al etileno y se reduce la actividad de enzimas involucradas con cambios bioquímicos indeseables (**Vicente y col., 2007; Artés y col., 1998**). Normalmente la temperatura opima se ubica entre 1 y 4 °C.

**Atmósfera modificada:** Es un método muy usado en los productos mínimamente procesados es un complemento perfecto a la hora de prevenir la deshidratación y alargar la vida útil del alimento al ralentizar algunos cambios fisiológicos y retrasar el desarrollo microbiano. De todos modos, no en todos los productos se observan una buena respuesta a esta tecnología. Los materiales disponibles para envases en algunos sistemas suelen ser escasos (**Mahalik y Nambiar, 2010**).

**Otras tecnologías:** Si bien el abanico de posibilidades complementarias a los métodos antes mencionados es amplio especialmente en lo que se refiere a la utilización de compuestos químicos. Así en la literatura se informan diferentes aditivos aplicados en forma directa. Algunos de ellos incluyen el calcio, los antioxidantes como el ácido cítrico o el ácido ascórbico y algunos compuestos antimicrobianos, o conservantes naturales (**Xylia y col., 2019; Bouarab Chibane y col., 2019; Morales-Sillero y col 2020; Pulisery y col., 2020**) Contrariamente en lo que se refiere a tratamientos físicos no existen en el sector de VMP muchas más alternativas que las mencionadas que se apliquen para extender la vida útil y retrasar el deterioro (**Ma y col., 2017**).

**I.1.4. Producción de frutilla mínimamente procesada, limitaciones para su difusión y uso de la radiación UV-C como tecnología complementaria a la refrigeración: algunos interrogantes.**

La comercialización de frutilla en forma de producto mínimamente procesado no es aún muy común. Esto probablemente se asocia con que ya el producto entero es muy perecedero (De Corato, 2020; Saha, 2020). La alternativa más eficaz de manejo poscosecha disponible para este producto es, como se mencionó anteriormente, una ajustada refrigeración (Wiley, 1994; Brackett, 1994). De todos modos, aun en estas condiciones la vida útil rara vez supera los 2 a 3 días. Las atmósferas modificadas ricas en CO<sub>2</sub> y reducidas en O<sub>2</sub> (5 kPa O<sub>2</sub>, 15 kPa CO<sub>2</sub>) han mostrado ser eficaces para frutillas, pero los materiales plásticos capaces de alcanzar estas condiciones en el equilibrio en forma rápida y sostenida ( $\beta = 1$ ) no abundan. Los materiales microperforados que muestran esta relación de permeabilidad entre ambos gases suelen tener valores altos de permeabilidad global que hacen insuficiente la modificación requerida. En tal sentido, la búsqueda de otros tratamientos suplementarios que permitan mejorar los beneficios de la refrigeración resulta de interés (Vicente y Lurie, 2014).

La radiación ultravioleta C (UV-C) que se ha identificado como emergente en el tratamiento de alimentos es una técnica limpia, de bajo costo y no térmica, que no deja residuos y puede ser como ya se mencionó una alternativa complementaria a la refrigeración para los productos frescos mínimamente procesados (Manzocco y col., 2011; Graça y col., 2020). Las ventajas y desventajas de la radiación UV-C se presentan en la **Tabla I.2**.

**Tabla I. 2. Ventajas y desventajas del uso de la radiación UV-C como método de conservación.**  
*Adaptado de Sethi y col., (2018).*

Ventajas	Desventajas
- No se modifican los nutrientes termosensibles.	- Tratamiento superficial
- La radiación UV-C no es ionizante, por lo que no cambia la naturaleza química de los componentes de los alimentos y no deja residuos.	- Eficacia dependiente de las características de la superficie: Irregularidades, poros, grietas y rugosidades pueden proteger a los microorganismos de la luz incidente.
- Los rayos UV-C son letales para la mayoría de los microorganismos patógenos y deteriorantes, siendo su eficacia comparable a otras técnicas de desinfección.	- Interferencia por absorción de materiales de empaque: Los materiales plásticos la absorben por lo que la ventana de aplicación se limita a producto no envasado.
- Bajo costos relativos de implementación y mantenimiento	-Dificultad para lograr uniformidad de aplicación.
- Más allá de los efectos germicidas pueden lograrse efectos horméticos beneficiosos asociados con la condición de estrés moderado aplicada.	-Poco conocimiento acerca de la influencia de factores de proceso diferentes de la dosis de radiación.

Una de las causas que aún limita el empleo de la radiación UV en muchos productos es que aún se desconocen con certeza las condiciones óptimas de irradiación a emplear. En frutilla entera los primeros trabajos realizados por **Nigro y col. (2000)** y **Baka y col. (1999)** informaron un mejor control de las enfermedades poscosecha de la frutilla tras una corta exposición a la radiación UV-C (dosis 0,25-4,0 kJ m<sup>-2</sup>) antes del almacenamiento. Trabajos posteriores pusieron en evidencia a la intensidad de radiación como otro factor de proceso fundamental más allá de la dosis total aplicada lo que aún es poco considerado en muchos

trabajos. Así, **Cote y col. (2013)** en frutilla entera destacaron la importancia de la intensidad de la radiación además de la dosis total de radiación aplicada. La combinación óptima de dosis e intensidad de radiación para frutillas mínimamente procesadas no se conoce. En un informe reciente **Li y col. (2019a)** informaron que la dosis empleada más frecuentemente para el producto entero es de  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  también es eficaz en el producto trozado. De todos modos, en este estudio no se consideró si la intensidad de radiación juega en el producto trozado un rol relevante en la eficacia de los tratamientos como en producto entero aspecto que resulta de importancia tecnológica establecer.

## **I.2. OBJETIVO**

- *Determinar la influencia de la dosis, intensidad radiación y grado de procesamiento de los frutos en la eficacia de tratamientos UV-C para mantener la calidad y vida poscosecha de frutilla mínimamente procesada.*

### I.3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### I.3.1. Selección de la combinación óptima de dosis e intensidad de radiación UV-C

Frutilla cv. Camarosa producida en un invernadero en la ciudad de La Plata, Argentina se cosechó en madurez comercial (color superficial rojo 100%) y se transportó al laboratorio en menos de 1 hora. Los frutos se seleccionaron eliminando aquellos que tenían daño físico, de maduración o defectos de forma, se lavaron con agua clorada ( $\text{NaClO}$   $100 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 6,5) y se cortaron longitudinalmente al eje principal en cuartos. Luego del corte, se lavaron nuevamente, se escurrieron para eliminar el exceso de agua y se sometieron a los siguientes tratamientos:

**Control:** no expuesto a la luz UV-C.

**Baja intensidad de UV-C / dosis baja:** frutos tratados con radiación UV-C a una intensidad de  $9 \text{ W m}^{-2}$  y una dosis de  $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ .

**Baja intensidad de UV-C / dosis alta:** frutos tratados con radiación UV-C a una intensidad de  $9 \text{ W m}^{-2}$  y una dosis de  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ .

**Alta intensidad de UV-C / dosis baja:** frutos tratados con radiación UV-C a una intensidad de  $36 \text{ W m}^{-2}$  y una dosis de  $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ .

**Alta intensidad de UV-C/ dosis alta:** frutos tratados con UV-C a una intensidad de  $36 \text{ W m}^{-2}$  y una dosis de  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ .

Todos los tratamientos de irradiación UV-C se realizaron en un gabinete móvil ( $1,7 \text{ m} \times 0,8 \text{ m} \times 0,5 \text{ m}$ ) equipado en la parte superior con 12 lámparas UV-C (emisión pico UV-C a  $254 \text{ nm}$ , TUV G30T8,  $30 \text{ W}$ , Philips, Argentina). La distancia entre la fuente emisora y el fruto fue en todos los casos de  $30 \text{ cm}$ . La dosis se estableció variando los tiempos y la intensidad del tratamiento modificando el número de lámparas encendidas. La dosis de radiación UV-C se evaluó utilizando un radiómetro digital UV-C (Electro Lite LC 300, Estados Unidos) ubicado en el centro del gabinete de irradiación. Después de los tratamientos, los frutos se colocaron en bandejas de tereftalato de polietileno ( $10 \times 15 \times 3 \text{ cm}$ ) con tapas perforadas (1 perforación de  $1 \text{ mm}$  de diámetro por  $\text{cm}^{-2}$ ). Se colocaron 40 piezas por bandeja. Se analizaron cuatro bandejas por tratamiento. A los 4 días de almacenamiento a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , se seleccionó la mejor condición de tratamiento UV-C a partir de la evaluación porcentaje de frutos mostrando podredumbres. El ensayo se realizó por duplicado.

### **I.3.2. Efecto del tratamiento UV-C seleccionado sobre la calidad físico-química, microbiológica, sensorial y vida útil de los frutos**

Frutilla cv. Camarosa producida en un invernadero en la ciudad de La Plata, Argentina, se cosechó en madurez comercial (color superficial 100% rojo) y se transportó inmediatamente al laboratorio. Los frutos se seleccionaron como se describió en la *sección 3.1*, y se lavaron con agua clorada durante 1 minuto. Luego las frutillas se cortaron longitudinalmente al eje principal en cuartos, se sometieron a un segundo lavado con agua clorada y se escurrieron. Los frutos se sometieron al tratamiento de irradiación UV-C con intensidad  $36 \text{ W m}^{-2}$ , dosis  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$  y se empaquetaron en bandejas de tereftalato de polietileno con tapa perforada (1 perforación de 1 mm de diámetro por  $\text{cm}^{-2}$ ). Se colocaron 40 trozos de frutos por bandeja. Los frutos se almacenaron a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 7 días. Los controles correspondientes sin tratamiento con UV-C se empaquetaron y almacenaron como se describió en la *sección 3.1*. A los 0, 4 y 7 días de almacenamiento se tomaron muestras y se utilizaron para la evaluación de calidad. Para el análisis químico, las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta su uso. Se realizaron tres bandejas por tratamiento y tiempo de almacenamiento y el experimento se efectuó por duplicado.

#### ***I. 3.2.1. Índice de deterioro visual y exudado de jugo***

Se calculó un índice de deterioro visual (IDV) usando una escala hedónica de cinco puntos (siendo 1: sin daño visual y 5: daño grave). Los atributos evaluados para IDV fueron la presencia de podredumbre y áreas maceradas, así como la pérdida de brillo de la superficie. Los jugos exudados se determinaron pesando el líquido liberado en cada bandeja individual a lo largo del almacenamiento. Los resultados se expresaron en gramos por kilogramo de peso fresco. Se realizaron seis mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.2. Pérdida de peso***

Las bandejas que contenían los frutos trozados se pesaron durante todo el período de almacenamiento en balanza digital (KERN 572, Buenos Aires, Argentina). La pérdida de peso se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = 100 \times (\text{Pi} - \text{Pf}) / \text{Pi}$$

Siendo Pi y Pf el peso inicial y el peso en cada tiempo de almacenamiento, respectivamente. Se realizaron seis mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.3. Recuentos en placa de levaduras y mohos***

Se pesaron 50 g de frutilla en vasos pre-esterilizados que contenían 225 mL de peptona al 0,1% p/v. Las muestras se agitaron durante 15 minutos y se prepararon dos series de diluciones ( $10^{-1}$ - $10^{-4}$ ) del líquido de lavado. Se cargó un mililitro de cada dilución en placas de Petri con medio YGC y se incubó a 20 °C durante 5 días. Se contaron las placas que mostraban entre 30 y 300 colonias y los resultados se expresaron como log de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de fruto fresco.

### ***I. 3.2.4. Firmeza***

Se determinó mediante ensayos de compresión uniaxiales en un analizador de textura (TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologies, NY, Estados Unidos) equipado con una sonda plana de 3 mm de diámetro. Las muestras se comprimieron 2 mm a una velocidad de 0,5 mm s<sup>-1</sup>. Se calculó la pendiente inicial de la curva de distancia de los frutos. Los resultados se expresaron en N mm<sup>-1</sup>. Se realizaron 60 mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.5. Color superficial***

Las mediciones se realizaron con un colorímetro (Minolta CR-400, Japón) para determinar los valores L\*, a\* y b\*. Se calculó la tonalidad del fruto como ángulo Hue (tg<sup>-1</sup> b\*/a\*) y el croma (a\*<sup>2</sup> + b\*<sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>. Se realizaron treinta mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.6. pH, acidez y sólidos solubles***

Los frutos se molieron en un molino y se tomaron 5 g de la muestra resultante, se adicionaron a 100 mL de agua destilada. El pH inicial se midió usando un medidor de pH y las muestras se titularon con NaOH 0,1 M a pH 8,2 determinado potenciométricamente (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como meq H<sup>+</sup>100 g<sup>-1</sup> de peso fresco. Para la medición de sólidos solubles (SS), el tejido triturado se filtró a través de una tela y se midió en un refractómetro digital autocompensado (HI 96801, Argentina). Los resultados se expresaron en % p/p. Se realizaron seis mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.7. Antioxidantes fenólicos***

Los compuestos fenólicos, se determinaron espectrofotométricamente en extractos etanólicos según Singleton y col. (1999). Se utilizó ácido clorogénico (ACG) como estándar (Martinsen y col., 2020). Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de ACG por kilogramo de peso fresco. Se analizaron tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

### ***I. 3.2.8. Evaluación sensorial***

Se realizó una prueba de aceptabilidad sensorial en los frutos almacenados durante 7 días a 4 °C. El panel consistió en 50 consumidores con una proporción igual de hombres y mujeres de un rango de edad de 25 a 35 años. Se pidió a los panelistas que calificaran los frutos en una escala hedónica de 9 puntos (1: pobre, 9: excelente) para los siguientes atributos: i) frecura, ii) color y iii) aceptabilidad general.

## **I.3.3. Efecto del grado de procesamiento sobre la eficacia de tratamientos UV-C en frutilla mínimamente procesada**

Se cosechó frutilla producidas en invernáculo en ciudad de La Plata, Argentina en estado de madurez plena (100% de color superficial rojo) y se trasladó inmediatamente al laboratorio. Los frutos se desinfectaron y seleccionaron como se describió anteriormente. Posteriormente se procesaron removiendo el cáliz y realizando cortes longitudinales para

obtener dos productos con diferente grado de procesamiento: en *Mitades* y en *Cuartos*. Luego del corte, se lavaron nuevamente, se escurrieron para eliminar el exceso de agua, se trataron con UV-C (intensidad  $36 \text{ W m}^{-2}$ , dosis  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ) y se empaquetaron en bandejas de tereftalato de polietileno con tapa perforada (1 perforación de 1 mm de diámetro por  $\text{cm}^{-2}$ ). Los frutos se almacenaron a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  por 7 días. Finalizado el periodo de almacenamiento, se evaluó índice de deterioro visual (IDV), el exudado de jugos, la pérdida de peso y el ablandamiento según se describió en la *sección 3.2*.

#### **I.3.4. Análisis estadístico**

Los supuestos del modelo de homogeneidad de varianza y normalidad se probaron mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. En el caso de ser necesario se realizaron las transformaciones respectivas de las variables. Los experimentos se realizaron de acuerdo con un diseño factorial, siendo los factores el tratamiento (experimentos 1 y 2) y el tiempo de almacenamiento (experimento 2). Los datos se analizaron por medio de un ANOVA utilizando el software InfoStat y las medias se compararon con la prueba de Fisher a un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

## **I.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **I.4.1. Selección de la combinación óptima de dosis e intensidad de radiación UV-C**

Las frutillas son apreciadas ampliamente en todo el mundo por su delicioso sabor y sus beneficios para la salud, aunque presentan limitaciones en su conservación (**Pott y col., 2019**). Su alta tasa metabólica y de ablandamiento y la susceptibilidad a la descomposición normalmente las conducen a una vida poscosecha muy breve incluso en condiciones adecuadas de refrigeración (**Panou y col., 2020; Muley y Singhal, 2020**). La capacidad de almacenamiento de la fruta es aún más corta después de un procesamiento mínimo que, aunque mejora la conveniencia de uso del producto, promueve varias reacciones de degradación y una mayor susceptibilidad a la descomposición. Esto probablemente ha contribuido a la distribución limitada de frutillas mínimamente procesadas a gran escala. Por ello resulta de interés la búsqueda de tratamientos complementarios al buen manejo de temperatura. En un primer ensayo se evaluaron cuatro combinaciones de dosis e intensidad de radiación a fin de seleccionar la condición más favorable de irradiación como tratamiento de poscosecha (**Figura I.1**). Los cuatro tratamientos con UV-C evaluados redujeron significativamente la descomposición de los frutos en relación con el control (**Figura I.2**). El uso de tratamientos con UV-C para el control de enfermedades ya se ha informado en el caso de frutillas enteras expuestas a dosis de entre 0,25 y 4,0 kJ m<sup>-2</sup> (**Barka y col., 2001; Nigro y col., 2000 y Pan y col., 2004**). En frutillas recién cortadas, un estudio reciente describió con efectos positivos en términos de control de la descomposición en frutos sometidos a una dosis de UV similar a ensayada en esta tesis trabajo, aunque no evaluó la interacción entre la dosis e intensidad de radiación (**Li y col., 2019a**).

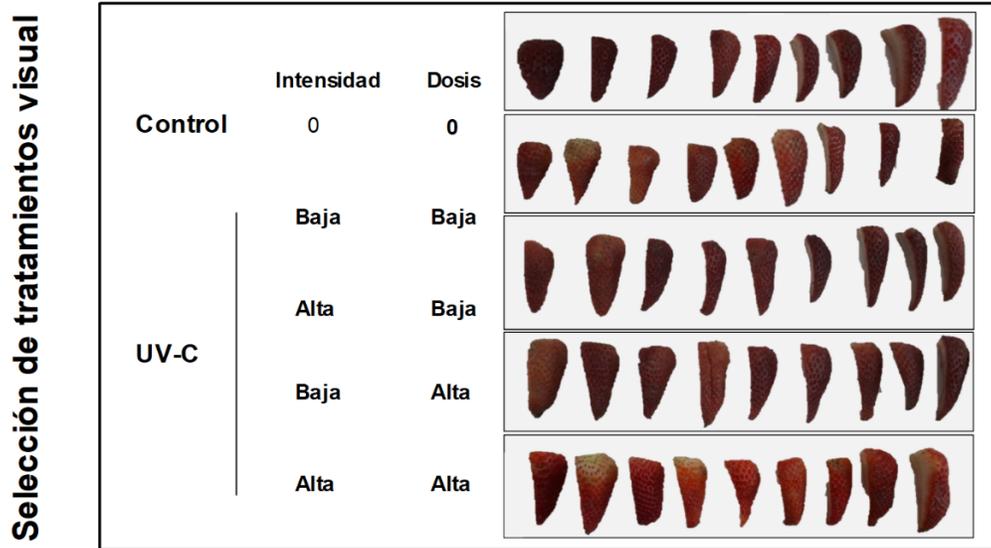


Figura I.1. Apariencia de frutilla mínimamente procesada en cuartos, control y tratada con diferentes combinaciones de dosis e intensidad de radiación UV-C. Baja intensidad:  $9 \text{ W m}^{-2}$ ; Alta intensidad:  $36 \text{ W m}^{-2}$ ; Dosis baja:  $2 \text{ kJ m}^{-2}$ ; Dosis alta  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ .

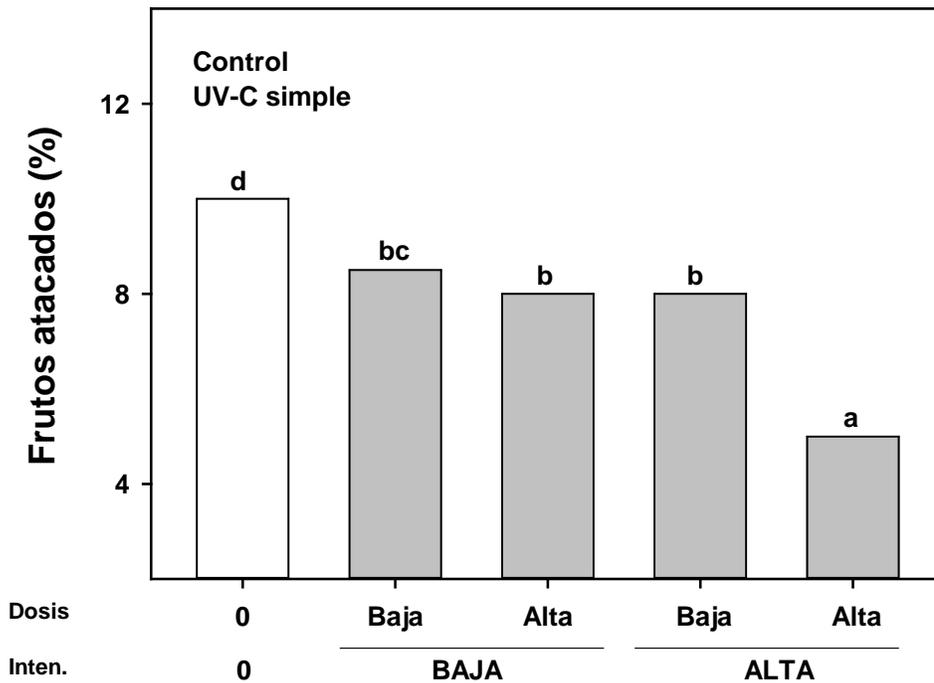


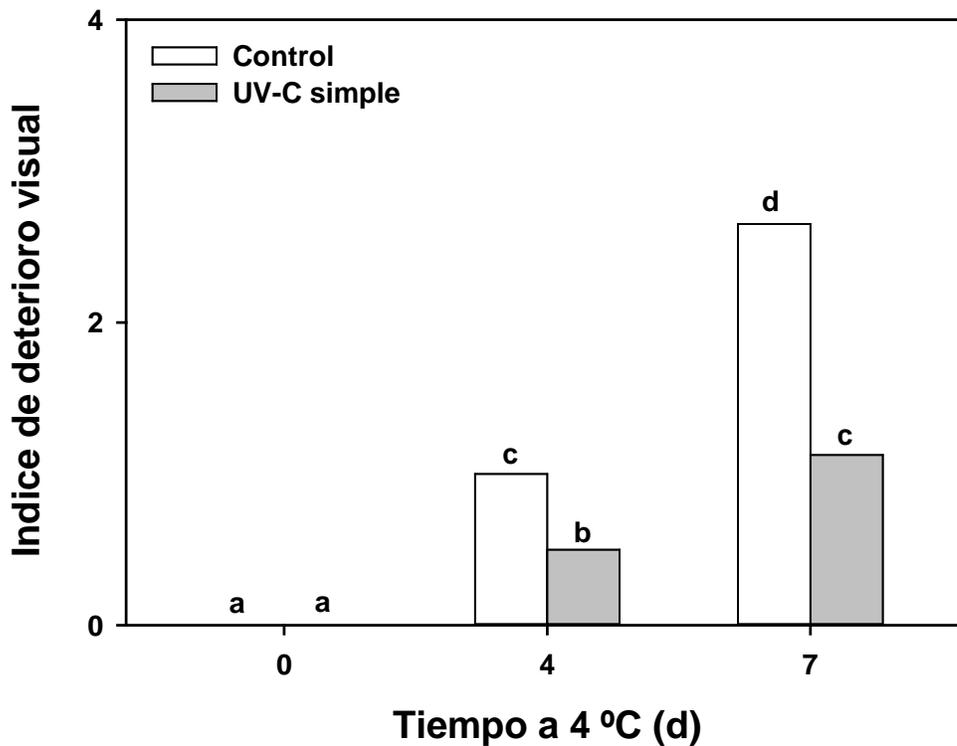
Figura I.2. Ataque de hongos en frutilla mínimamente procesada en cuartos, control y tratada con diferentes combinaciones de dosis e intensidad de radiación UV-C y almacenada a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  por 4 d. Baja intensidad:  $9 \text{ W m}^{-2}$ ; Alta intensidad:  $36 \text{ W m}^{-2}$ ; Dosis baja:  $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ; Dosis alta  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ . Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

En el presente trabajo el tratamiento UV-C que combinó una alta intensidad y dosis ( $36 \text{ W m}^{-2}$  y  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ ) resultó ser la condición más efectiva para el control de podredumbres. Las mutaciones inducidas en el ADN por la radiación ultravioleta se consideran una de las principales causas a las que se atribuye la inactivación microbiana de este tipo de tecnologías. La absorción de UV-C induce la formación de fotoproductos en particular dímeros de pirimidina que inhiben la transcripción y replicación y eventualmente conducen a la muerte celular. De todos modos, se conoce que el exceso de radiación puede exacerbar la producción de radicales libres capaces de dañar otros componentes celulares como lípidos y proteínas (**Lopez-Malo y Palou, 2005**). **Cote y col. (2013)** en frutilla informaron que la alta intensidad de radiación UV-C reduce el ataque fúngico, aunque este trabajo se realizó en frutillas enteras sin procesar, menos maduras y sin previa desinfección. En base a los resultados obtenidos, el tratamiento UV-C de alta intensidad -alta dosis ( $36 \text{ W m}^{-2}$  y  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ) fue seleccionado para caracterizar en mayor detalle el impacto de la radiación UV-C en las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de las frutillas durante el almacenamiento.

#### **I.4.2. Efecto del tratamiento seleccionado con UV-C sobre la calidad físico-química, microbiológica y sensorial y vida útil de la fruta**

Los síntomas de deterioro más frecuentemente observados en los frutos durante el almacenamiento fueron la pérdida de brillo superficial y la formación de áreas con maceración de tejidos. El procesamiento mínimo elimina las barreras protectoras superficiales de los frutos lo que se ha sugerido que favorece el desarrollo microbiológico en sitios de corte (**Ragaert y col., 2011**). Frecuentemente se observa por ello en vegetales mínimamente procesados (VMP) que es el sitio de corte el área más susceptible (**Rodoni y col., 2017**). En contraposición con ello, en el presente estudio las podredumbres fueron más comunes en la zona exterior del receptáculo que en la región de corte. Una explicación posible y simple para ello podría ser que la región radial interna del fruto todavía contiene tejidos inmaduros, y que el efecto protector de este factor de madurez sobre la susceptibilidad a la descomposición es más relevante que la eliminación de barreras naturales a través del corte. Más allá de esto y analizando el efecto de los tratamientos de irradiación, los frutos expuestos a UV-C mostraron claras diferencias en términos de índice de deterioro visual

(IDV). Después de 4 días de almacenamiento, el IDV ya era menor en los frutos tratados (**Figura I.3**). El efecto se hizo aún mayor después de 7 días a 4 °C. De hecho, el IDV de las frutillas tratadas con UV-C después de una semana fue comparable al encontrado en el fruto control almacenado durante solo 4 días.



*Figura I.3. Índice de deterioro visual (IDV) en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m<sup>-2</sup> y dosis de radiación 4,0 kJ m<sup>-2</sup>), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P <0,05.*

La frutilla tratada con UV-C mostro además luego de 7 días de almacenamiento una masa de exudado de jugo 20 veces menor que los control indicando una menor pérdida de compartimentalización celular (**Figura I.4**). **Manzocco y col. (2011 a y b)** encontraron resultados similares en melón cortado y asociaron el menor exudado en respuesta a la radiación UV con una deshidratación superficial que restringe la salida de jugos. De todos modos, es posible que el solo retraso del daño celular explique en buena parte la menor exudación.

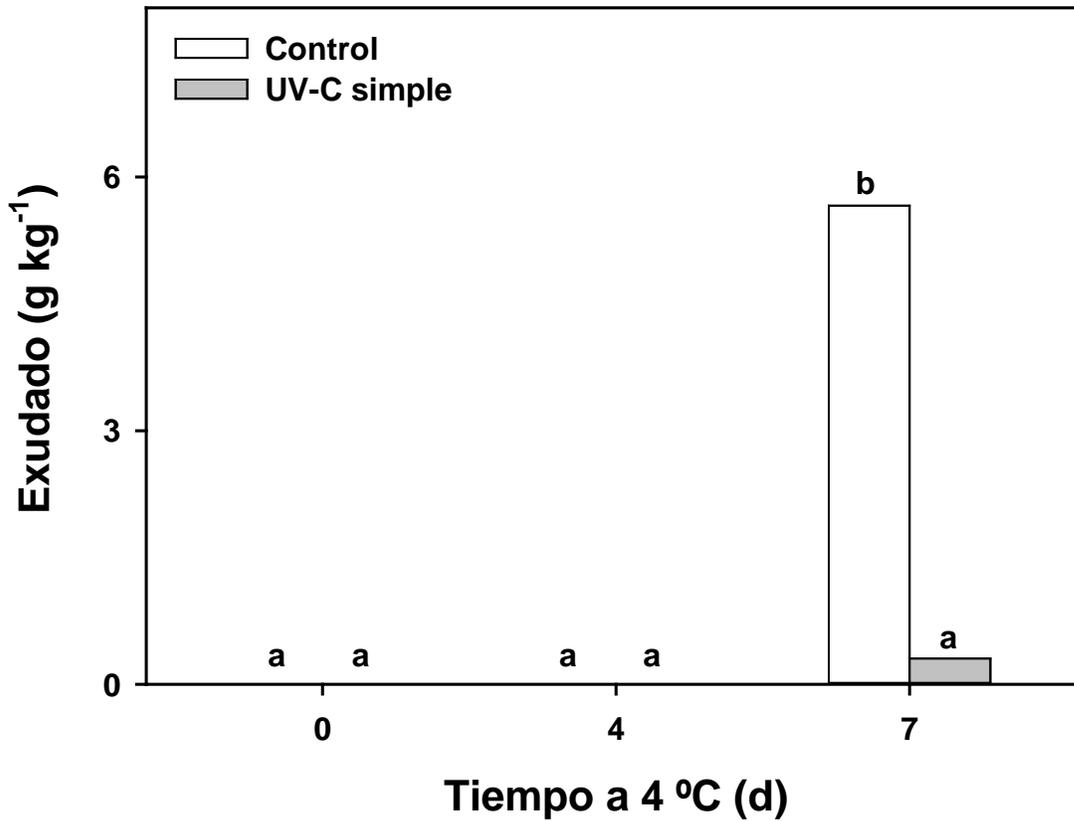


Figura I.4. Exudado de jugo en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación  $36 \text{ W m}^{-2}$  y dosis de radiación  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ), almacenada a  $4 \text{ °C}$  durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

El efecto protector de los tratamientos con UV-C en la integridad de la fruta durante el almacenamiento se ha asociado con tres fenómenos diferentes *i*) el poder nocivo (germistático o germicida) de la radiación sobre los patógenos poscosecha, *ii*) el retraso en el proceso de maduración (Artés-Hernández y col., 2010; Fan y col., 2017; Moreno y col., 2017) y/o *iii*) la inducción de diferentes tipos de respuestas defensivas agrupadas bajo el término "hormesis" (Vasquez y col., 2017; Martínez-Sánchez y col., 2019). Para comprender si las respuestas en este caso se debieron a un efecto germicida, se evaluaron los cambios en las unidades frmadoras de colonias de hongos en los frutos control y tratados inmediatamente después de la exposición a los rayos UV y durante el almacenamiento. Los

principales hongos que se han asociado con la descomposición de la poscosecha de frutilla incluyen los géneros *Botrytis* y *Rhizopus* (Nigro y col., 2000; Agyare y col., 2020). También se ha informado que las levaduras causan podredumbres blandas en productos recién cortados (Graça y col., 2020). Inmediatamente después de la irradiación no se encontraron cambios en los recuentos de levaduras y mohos (Figura I.5). En línea con estos resultados Pan y col. (2004) informaron que en frutilla entera los tratamientos con UV-C a una dosis similar a la utilizada aquí no afectó la viabilidad de conidios de *Botrytis* y *Rhizopus*. Esto indica que el impacto observado en la descomposición de los frutos no se debió a una respuesta germicida. Después de 4 y 7 días de almacenamiento a 4 °C, los frutos tratados con UV-C presentaron un menor recuento de UFC g<sup>-1</sup> que el control, lo que podría sugerir que la activación de respuestas de defensa podría estar inhibiendo la multiplicación de hongos en los frutos. Pombo y col. (2011) describieron la inducción de genes que codifican enzimas antimicrobianas en frutillas enteras expuestas a la radiación UV-C.

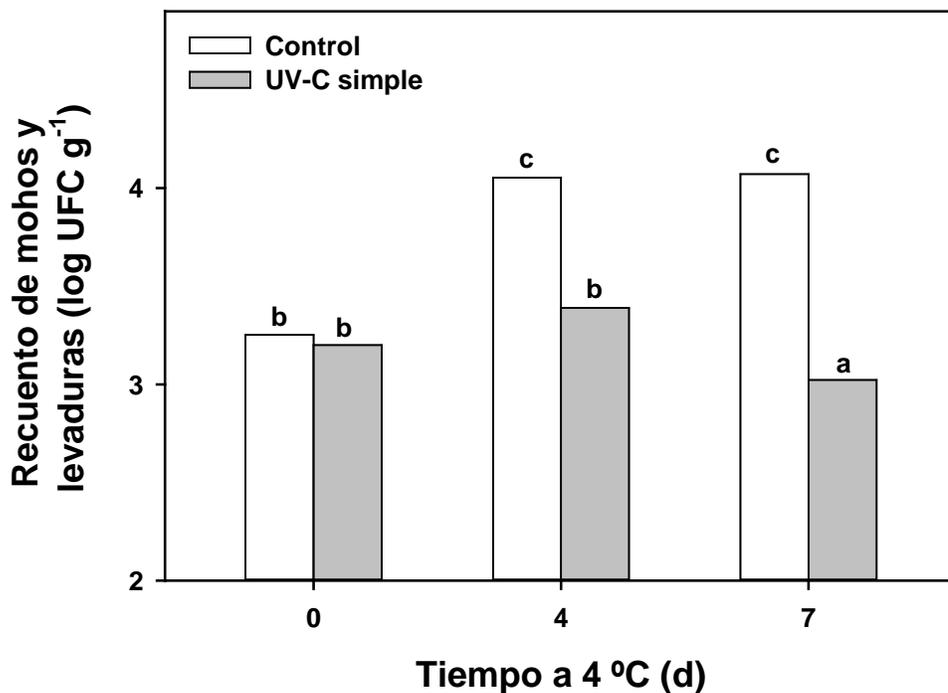


Figura I.5. Recuento de mohos y levaduras en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m<sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m<sup>-2</sup>), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P <0,05.

La deshidratación es otro factor de deterioro importante que limita la vida útil de muchos frutos almacenados. El problema puede ser aún más dramático en los productos recién cortados, en los que se eliminan las barreras que ejercen una resistencia contra la pérdida de agua (Olivas y col., 2007; Narsaiah y col., 2015). En el presente trabajo se observó que los frutos tratados con UV-C sufrieron una pérdida de peso menor que el control al final del almacenamiento (Figura I.5). Lamickanra y col. (2005) sugirieron que la irradiación UV podría afectar la superficie de los frutos y reducir su susceptibilidad a la pérdida de agua. Rodoni y col. (2012) sugirieron que la exposición a los rayos UV, al favorecer el entrecruzamiento de los componentes proteicos y fenólicos de la pared, podría modular la tolerancia del fruto a la deshidratación. Independientemente de los mecanismos involucrados los resultados hallados muestran que los tratamientos con irradiación UV-C poseen un efecto favorable en el control de la deshidratación de frutilla mínimamente procesada.

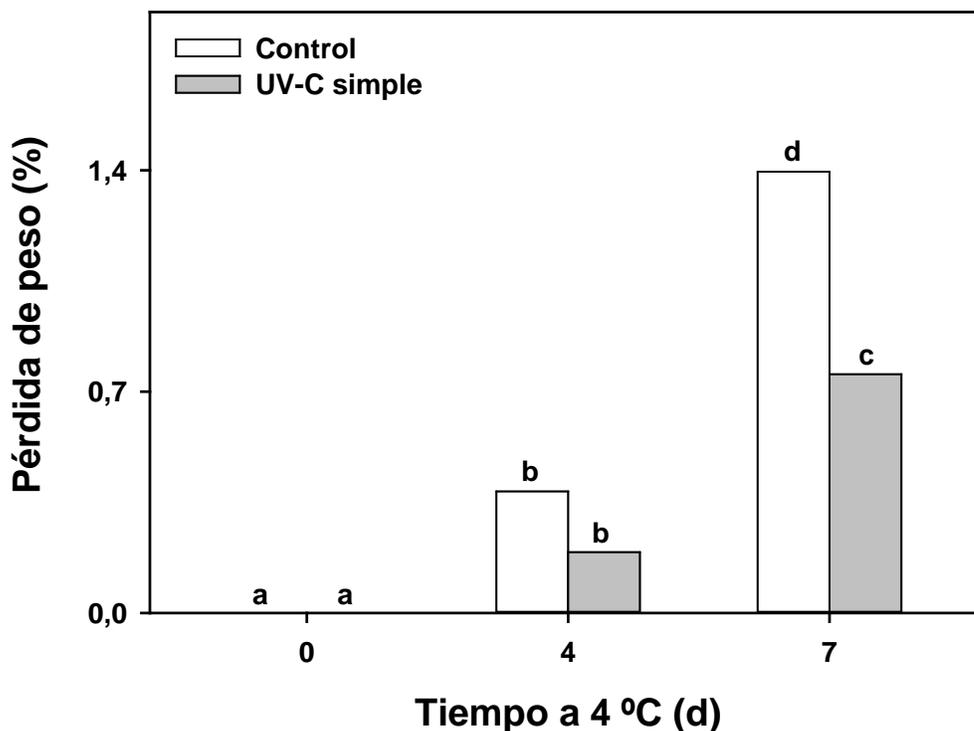


Figura I.6. Pérdida de peso en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación  $36 \text{ W m}^{-2}$  y dosis de radiación  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ), almacenada a  $4 \text{ °C}$  durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Sin duda una consecuencia indeseable del corte de muchas frutas y hortalizas es la aceleración del ablandamiento. El estrés ocasionado por el daño mecánico exagera una pérdida de firmeza (Qi y col., 2011). En el presente trabajo después de 4 días de almacenamiento los frutos control mostraron una caída en la resistencia a la compresión (Figura I.6). Se encontraron valores más altos en frutillas tratadas con UV-C, lo que indica también un efecto protector sobre el deterioro de la textura. Estas diferencias se observaron hasta el final del período de almacenamiento. El efecto positivo que la irradiación UV-C aplicada tuvo sobre la textura del fruto es notable. De hecho, las frutillas tratadas con UV-C no mostraron ablandamiento incluso después de 7 días de almacenamiento. La mayor firmeza de los frutos irradiados en relación con el control podría estar relacionada con un retraso del desmontaje de la pared celular. Algunos estudios previos han descrito este efecto de la radiación UV-C indicando que puede retrasar el ablandamiento de los frutos (Bu y col., 2013; Rodoni y col., 2017; Abdipour y col., 2019).

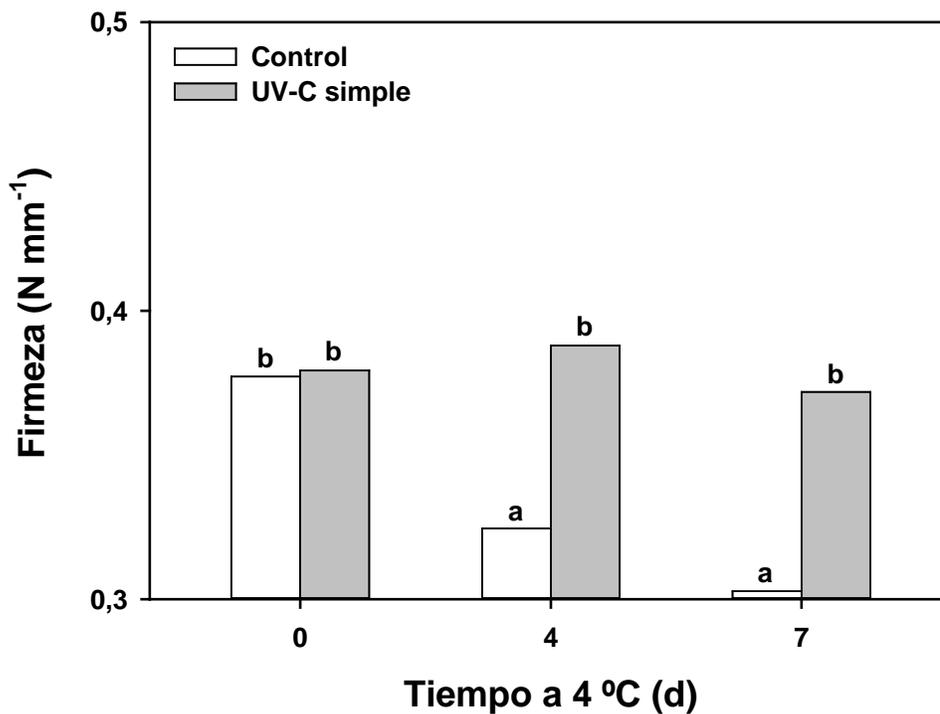


Figura I.7. Firmeza en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m<sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m<sup>-2</sup>), almacenada a 4 °C durante 0, 4 y 7 días. Letras distintas indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05.

A fin de determinar si la exposición a la radiación UV causó modificaciones en otros atributos de calidad relevantes, se evaluaron los cambios en el color, la acidez, el contenido de sólidos solubles y los antioxidantes fenólicos de los frutos (**Tabla I.3**). El color en la frutilla se debe a la presencia de antocianinas, un grupo de pigmentos fenólicos del grupo de los flavonoides solubles en agua y con propiedades antioxidantes (**Rodrigo y col., 2007, Patras y col., 2009**). En el caso de la frutilla la principal antocianina es el pelargonidin-3-glucósido (**Zabetakis y col., 2000**). Más allá del nivel del mencionado compuesto el color del producto es afectado por varios factores como el pH y la turgencia superficial que afecta la reflexión superficial de la luz.

*Tabla I.3. Luminosidad (L\*), Hue, pH, acidez titulable, sólidos solubles totales (SST) y antioxidantes fenólicos en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación 36 W m<sup>-2</sup> y dosis de radiación 4 kJ m<sup>-2</sup>), almacenada en 4 °C durante 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P <0,05.*

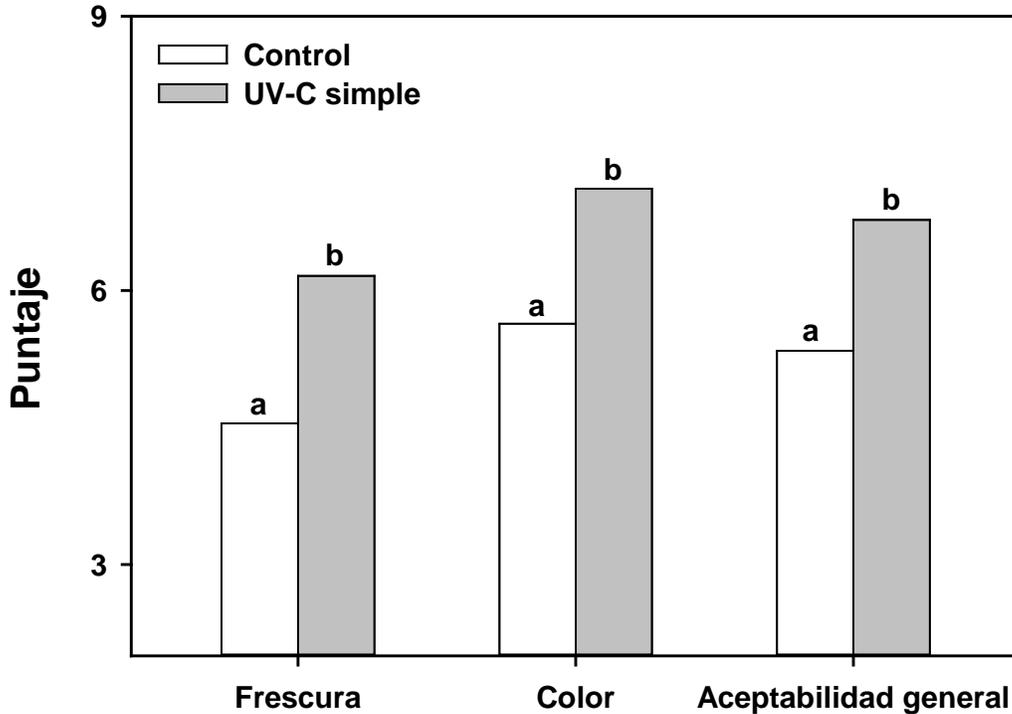
Tiempo a 4°C (d)				
		0	4	7
<b>Luminosidad (L*)</b>	Control	35 a	34 a	33 b
	UV-C	36 a	35 a	35 a
<b>Hue</b>	Control	37 a	36 a	30 c
	UV-C	37 a	36 a	33 b
<b>pH</b>	Control	3,34 a	3,37 a	3,31 a
	UV-C	3,38 a	3,38 a	3,35 a
<b>Acidez (meq H<sup>+</sup>100g<sup>-1</sup>)</b>	Control	8,7 a	7,6 c	8,0 bc
	UV-C	8,5 ab	7,6 c	7,8 c
<b>SST (%)</b>	Control	6,6 a	7,3 a	6,5 a
	UV-C	6,4 a	7,4 a	6,4 a
<b>Antiox. fenólicos (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	Control	1245 b	1234 b	1459 a
	UV-C	1235 b	1287 b	1359 a

En el presente trabajo los cambios de color a lo largo del almacenamiento fueron leves atendiendo a que se trabajó con frutos en un estado de madurez avanzado y que se mantuvieron en condiciones de refrigeración. A pesar de ello en el último día de muestreo se observó una reducción de la luminosidad y del valor del ángulo Hue que muestran un oscurecimiento progresivo de los frutos. Este descenso fue menor en los frutos tratados con UV-C indicando un retraso en la progresión de la maduración como consecuencia de los tratamientos (**Tabla I.3**).

El pH de los frutos no mostró grandes variaciones ni entre días ni entre tratamientos. En la acidez pudo detectarse al cuarto día de almacenamiento una disminución, pero sin diferencias entre frutos control y tratados. Esto probablemente se asocia con un exacerbado consumo respiratorio derivado del procesamiento. El aumento en la tasa respiratoria de productos mínimamente procesado respecto a los correspondientes productos enteros se conoce (**Watada y Minott, 1996**). El contenido de sólidos solubles totales se ubicó entre 6,4 y 7,4%, sin cambios significativos durante el almacenamiento ni en respuesta a la irradiación. Esto está en línea con los resultados reportados en la literatura que muestran un impacto moderado en azúcares y acidez derivados de este tipo de tratamientos (**Cote y col., 2013; Safitri y col., 2015; Nimitkeatkai y Kulthip, 2016**). Finalmente, al analizar el contenido de antioxidantes fenólicos totales, se encontró una tendencia creciente con el almacenamiento, pero nuevamente sin diferencias entre frutillas control y tratadas. Si bien se ha descrito que la irradiación puede estimular la biosíntesis de compuestos fenólicos en diferentes especies fruti-hortícolas (**Avalos-Llano y col., 2020; Mishra y col., 2020; Martínez-Hernández y col., 2020; Yan y col., 2020; Hassan y col., 2020**), al dosar el contenido en los frutos al menos con las condiciones de dosis intensidad y grado de procesamiento evaluado aquí no se encontraron cambios. Esto difiere del trabajo publicado recientemente en frutillas cortadas en el que el uso de radiación UV-C provocó una acumulación compuestos antioxidantes (**Li y col., 2019a**). Dado que la dosis empleada en dicho estudio es similar a la evaluada aquí los resultados sugieren que las diferencias en la respuesta debieran atribuirse o bien a diferencias en la intensidad de radiación distinta o eventualmente a efectos varietales.

Finalmente se realizó una evaluación sensorial empleando un panel de consumidores a fin de establecer si estos percibían diferencia en atributos relevantes al momento de compra

como la frescura, el color y la aceptabilidad general (**Figura I.8**). Para los tres atributos evaluados se observaron diferencias significativas con puntajes superiores para los frutos tratados con UV-C.

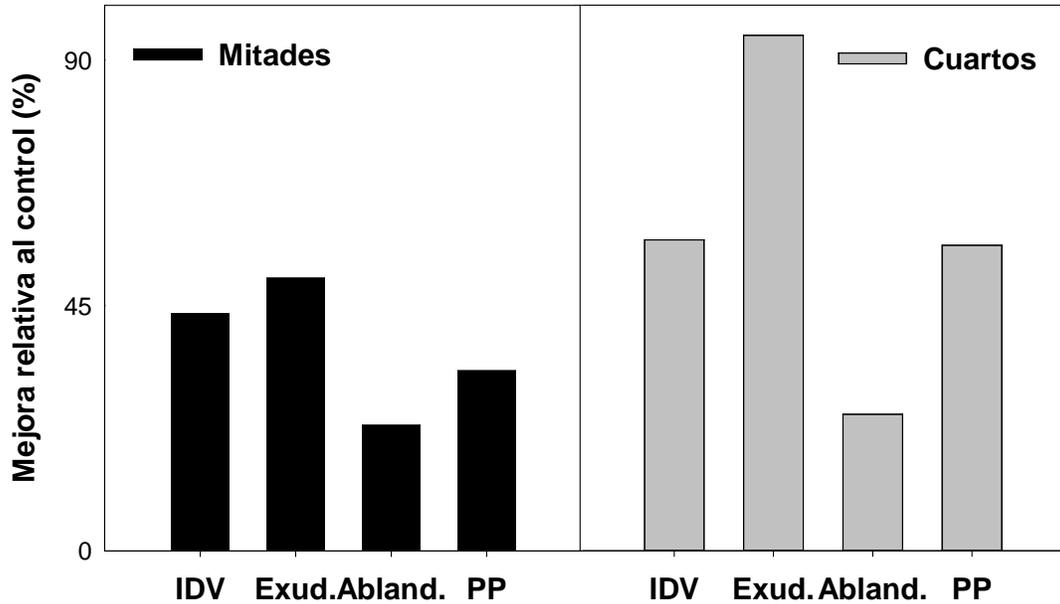


*Figura I.8. Evaluación sensorial (frescura, color y aceptabilidad general) en frutilla mínimamente procesada control o tratada con UV-C (intensidad de radiación  $36 \text{ W m}^{-2}$  y dosis de radiación  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ ), almacenada a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 7 días. Letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

#### **I.4.3. Efecto del grado de procesamiento sobre la eficacia de tratamientos UV-C en frutilla mínimamente procesada**

A fin de establecer si el grado de procesamiento afectaba la eficacia de los tratamientos, se determinó frutos trozados en mitades y en cuartos la mejora ocasionada como consecuencia de la irradiación UV-C luego de un periodo de vida útil de 7 d a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  relativa a los frutos control (**Figura I.9**). Para tres de los cuatro parámetros que mostraron mejoras en el ensayo previo se observó un efecto más marcado en la eficacia en los frutos trozados en cuartos que en los procesados en mitades. Así la reducción en el deterioro visual (IDV),

exudado, ablandamiento y pérdida de peso (PP) fue de 57 %, 94,5 % 25 % y 56% respectivamente en los frutos trozados en cuartos y solo 43,5 %, 50 %, 23 %, 33 % en los frutos trozados en mitades.



*Figura I. 9. Efecto del grado de procesamiento (mitades y cuartos) sobre el control del deterioro (IDV, deterioro visual, exudado, ablandamiento y PP, pérdida de peso) en frutilla tratada con radiación UV-C (intensidad de radiación  $36 \text{ W m}^{-2}$  y dosis de radiación  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ ), almacenada a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 7 días.*

La mayor eficacia observada en el caso de los frutos trozados en cuartos podría deberse a un efecto más notorio del tratamiento UV-C suplementario en frutos con mayor grado de trozado y por tanto más perecederos (Ali y col., 2018). Otra hipótesis posible es que al aumentar el trozado también lo hace la superficie expuesta a la radiación con un mayor potencial para inducir respuestas en los vegetales. En otros productos se ha observado por ejemplo que las respuestas fisiológicas son mucho más marcadas al aumentar el área irradiada (Cisneros-Zevallos, 2003; Villarreal-García y col., 2016; Surjadinata y col., 2017). Más allá del mecanismo involucrado los resultados identifican al grado de procesamiento como otra importante variable a considerar a nivel tecnológico a la hora de predecir posibles beneficios de este tipo de tecnologías.

## **I.5. CONCLUSIONES**

En este capítulo se seleccionó una combinación adecuada de dosis e intensidad de radiación UV-C para el tratamiento poscosecha de frutilla mínimamente procesada. Los tratamientos a la dosis e intensidad más altas ensayadas (intensidad  $36 \text{ W m}^{-2}$ , dosis  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ) mostraron los mayores beneficios en términos de control del deterioro microbiológico del fruto y del retraso de la maduración. Las frutillas sometidas a este tratamiento presentaron un menor desarrollo de podredumbres y exudado de jugo una reducción en la pérdida de peso y una disminución en los recuentos de mohos y levaduras. Los tratamientos cortos de irradiación retrasaron además la pérdida de firmeza, resultando en frutos que recibieron un mayor puntaje en un panel de consumidores desde el punto de vista de su color frescura y aceptabilidad global. Por otra parte, los tratamientos UV-C seleccionados no causaron alteraciones en el pH, acidez, contenido de sólidos solubles y antioxidantes fenólicos. Las frutillas tratadas con UV-C después de una semana, presentaron un deterioro similar a los frutos de control apenas luego de 4 días. En conjunto, los resultados sugieren que un tratamiento corto con UV-C podría ser útil para complementar el almacenamiento en frío, extendiendo la vida útil de las frutillas mínimamente procesadas. Finalmente, el grado de procesamiento es otro factor determinante de los beneficios de la irradiación UV-C. En este sentido en el presente trabajo se observó una mayor eficacia en la medida que los frutos sufrieron un mayor grado de trozado. Esto podría atribuirse a la mayor susceptibilidad al deterioro de los frutos más intensamente procesados como a una mayor exposición a la radiación en la medida que el procesado aumenta la superficie expuesta o bien a una combinación de ambos factores. Estos aspectos resultan de importancia práctica para conocer el modo que diferentes variables de proceso influyen la efectividad de la irradiación UV-C.



## CAPÍTULO II

**Impacto del patrón de exposición a la radiación  
UV-C en la vida poscosecha de frutilla almacenada.**

## II.1. INTRODUCCIÓN

### II.1.1. Podredumbres poscosecha de frutilla por *Botrytis cinerea* (podredumbre gris) y *Rhizopus stolonifer* (podredumbre algodonosa)

La distribución de frutos altamente perecederos como la frutilla desde los sitios de producción hasta los consumidores con máxima calidad es un constante desafío (**Bower y col., 2003; Giné-Bordonaba y Terry, 2016; Li, y col., 2019**). Aun en condiciones óptimas de manejo de temperatura vida útil de la frutilla entera suele no superar los 7 a 10 días (**Erkan y col., 2008, Chen y col., 2016**). La causa más frecuente de descarte de frutos enteros son las podredumbres ocasionadas por hongos (**Dong y col., 2020; Wanjiku y col., 2020**). Los mohos involucrados en el deterioro de *berries* como la frutilla son diversos incluyendo a *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor mucedo* y *Colletotrichum acutatum*, aunque los dos primeros suelen ser los más prevalentes y problemáticos en la poscosecha (**Elad y col., 2004**).

*Botrytis cinerea* es un agente fitopatógeno cosmopolita capaz de infectar a más de 200 especies, frutas frescas, plantas ornamentales y hortalizas en todo el mundo (**Xiong y col., 2018**). En cultivos como la uva y la frutilla ocasiona anualmente pérdidas por cientos de millones de dólares (**Zhang y col., 2020; Zhang y col., 2020**). En los últimos años ha habido un progreso sustancial en nuestra comprensión de la biología y patología este hongo (**Bolívar-Anillo y col., 2020; Dong y col., 2020**). Las infecciones se inician normalmente en el campo y se ven favorecidas por la alta humedad relativa y la baja ventilación, y pueden ser particularmente problemáticas durante el otoño o en épocas lluviosas (**Elad y col., 2004**). Con algunas excepciones, *Botrytis* ataca principalmente tejidos blandos, dañados, senescentes o muertos (**Agrios, 1998**). El proceso de infección frecuentemente comienza en las flores donde los conidios pueden permanecer en estado latente para desarrollarse posteriormente en la etapa de fructificación (**Bristow y col., 1986; Paulus, 1990**). Los síntomas comienzan como pequeñas manchas amarillentas que se expanden rápidamente, formando regiones blandas irregulares de color marrón, que eventualmente se cubren con micelio blanco y conidios de color gris (**Figura II.1**).

Si bien el ataque puede ocurrir a lo largo de todo el receptáculo los síntomas suelen observarse más frecuentemente cerca de la región del cáliz, en asociación con la presencia



**Figura II. 1** A) Conidios de *B. cinerea* con la agrupación típica en racimo sobre conidióforo. B) Desarrollo de *Botrytis* en frutilla.

de pétalos o estambres infectados que se han adherido al cáliz o partes de los frutos (Agrios, 1998). La presencia de heridas y lesiones causadas por insectos o durante labores culturales, cosecha y transporte también facilitan el desarrollo de pudriciones (Olías y col., 1998). Desde el punto de vista ambiental las épocas lluviosas y otras situaciones tanto de campo como de poscosecha que pueden favorecer la deposición de agua en los frutos exacerban las podredumbres. Si bien *Botrytis* desarrolla en forma más agresiva a 20-25 °C aún en condiciones de refrigeración puede desarrollarse sin problemas (Patriarca, 2019). Las podredumbres de frutilla por *Rhizopus stolonifer* si bien menos frecuentes pueden ser problemáticas en algunos casos. El hongo penetra a los frutos normalmente en estado de madurez avanzada a través de heridas (Petrasch y col., 2019). Los frutos infectados suelen mostrar inicialmente zonas decoloradas y húmedas, que se tornan gradualmente de color marrón claro. La infección avanza con la coalescencia de las zonas atacadas y liberación del contenido celular. Finalmente, los frutos se cubren de micelio blanco algodonoso con largos esporangióforos que terminan en esporangios negros (Maas, 1989; Baggio y col., 2016). Muchas cepas de *Rhizopus* muestran un crecimiento limitado por debajo de 5 °C por lo que la refrigeración a las temperaturas recomendadas para frutilla reduce notablemente este problema (Mitchell y col., 1996).



**Figura II. 2. A) Esporangios de *Rizhopus* sobre esporangióforo B) Desarrollo de *Rhizopus* en frutilla.**

### **II.1.2. Control de podredumbres en poscosecha de frutilla: Una paleta limitada de opciones**

El manejo de podredumbres en frutilla se encuentra acotado al empleo de medidas que procuran modular a uno o varios de los componentes del triángulo de la enfermedad: el patógeno, el hospedante y/o el medio ambiente (Gétaz y col., 2020). Los métodos utilizados son en todos los casos preventivos y atienden a reducir la presencia de inóculo, a morigerar su patogenicidad o bien a disminuir la susceptibilidad del hospedante. En el primer caso las recomendaciones se orientan a evitar mantener restos de cultivo muertos o frutos infectados en el campo y no cosechar frutos enfermos (INIA, 2017). La virulencia de los hongos a nivel de campo es afectada principalmente por factores ambientales, siendo los más relevantes la temperatura y la presencia de agua libre en la superficie de los frutos (Koike y Bolda, 2016). Finalmente, respecto a la susceptibilidad de los frutos uno de los aspectos primordiales es prevenir todo tipo de daño mecánico. Al tal fin se recomienda maximizar los cuidados especialmente en las operaciones de cosecha y transporte en las que magullones y golpes suelen producirse (INTA, 2017). Si bien en algunas especies fruti-hortícolas es posible reducir la susceptibilidad al ataque fúngico anticipando la cosecha, esta alternativa no es recomendable en frutilla. Esto es debido a que los frutos continúan creciendo durante la maduración, por lo que la cosecha prematura puede reducir su tamaño (Morales y col., 2017). Asimismo, los frutos separados de la planta antes de su madurez plena poseen menor dulzor

al interrumpirse la importación de azúcares simples que tienen lugar hasta el final del proceso de maduración (Flórez y col., 2010).

Las alternativas disponibles para el control de enfermedades en la poscosecha de frutilla son escasas. Al igual que se mencionó antes buena parte de los esfuerzos suelen concentrarse en minimizar el daño mecánico. Por otro lado, se debe intentar distribuir rápidamente la fruta y en condiciones óptimas de refrigeración (0 °C y 90-95% de humedad) (Kader y col., 2002). Los tratamientos de desinfección o lavado muy empleados en otras especies fruti-hortícolas no se emplean en los *berries* para el mercado fresco, ya que pueden aumentar la susceptibilidad a las podredumbres (García-Robles y col., 2017). Desde el punto de vista de las estrategias químicas no existen fungicidas aprobados para su uso en frutilla en poscosecha. Los agentes mejoradores de firmeza como las sales de calcio que han demostrado eficacia a nivel experimental (Aguayo y col., 2008) no se aplican comercialmente en poscosecha. Las atmósferas modificadas muestran buenos beneficios en el control de *Botrytis* especialmente si se alcanzan niveles de 15% de CO<sub>2</sub> y 5% de O<sub>2</sub> (Alamar y col., 2017). Desafortunadamente si el manejo de temperatura es el óptimo es difícil alcanzar las atmósferas necesarias sin recurrir a sistemas de inyección de gases. Otra limitante importante para la utilización de sistemas de atmósfera modificada en fruta entera para mercado fresco en Argentina es que dicha tecnología no es factible si no se encuentra garantizado el mantenimiento de la cadena de frío a lo largo de toda la distribución (Mitcham y col., 2002). Finalmente, algunas otras estrategias alternativas tales como recubrimientos comestibles han mostrado buenos resultados a escala de laboratorio (Romanazzi y col., 2016), pero han tenido dificultades para escalar a escenarios comerciales. En consecuencia, existe un conjunto relativamente limitado de estrategias para reducir las pérdidas poscosecha en frutillas debidas a podredumbres. En los últimos años, y en línea con la mayor preocupación de muchos consumidores respecto del uso de químicos en la producción de alimentos, la búsqueda de tratamientos físicos que puedan contribuir al control de enfermedades de poscosecha se ha tornado muy activa (Vicente y Lurie, 2014).

### **II.1.3. Uso de radiación UV-C extender la vida poscosecha de frutilla entera: avances, situación actual y huecos de conocimiento**

Al analizar la literatura se encuentran cerca de una quincena de trabajos referidos al empleo de radiación UV-C como método control de enfermedades en frutilla (**Tabla II.1**). Los primeros estudios realizados por **Baka y col., (1999)** y **Marquenie y col., (2002)** describieron que estos tratamientos como promisorios para reducir la incidencia de podredumbres. Posteriores trabajos realizaron aportes importantes al identificar mecanismo involucrados en este efecto como i) la reducción en la velocidad en la geminación de conidios tanto de *Botrytis* como de *Rhizopus* (**Pan et al., 2004**) y ii) la inducción de respuestas defensivas tales como la activación de quitinasas y glucanasas (**Pombo y col., 2009**).

Al analizar las variables de proceso más relevantes en la eficacia los estudios iniciales identificaban solo a la dosis de radiación. Al respecto es al menos llamativo el amplio rango de dosis empleadas que varía en dos órdenes de magnitud (0,25 a 30 kJ m<sup>-2</sup>). El posterior estudio realizado por **Cote y col. (2013)** clarificó que es sumamente importante considerar a la combinación de dosis e intensidad a la hora de seleccionar tratamientos ya que ambos factores poseen relevancia e impacto en la eficacia. Al analizar el momento de aplicación de la radiación UV-C los estudios iniciales se basaban casi en su totalidad en tratamientos de poscosecha realizados antes del almacenamiento. En recientes años, algunos equipos de investigación comenzaron a evaluar la posibilidad de irradiar a los frutos en la precosecha (**Xie y col., 2015; Severo y col., 2015; Xu y col., 2017**). Estos trabajos además permitieron realizar varios tratamientos sucesivos de irradiación a diferencia de los métodos convencionales. A partir de estos estudios se desprenden algunas nuevas observaciones de interés. En primer término, si bien la irradiación a campo logró controlar *Botrytis* en frutilla producida en túneles bajos, la presencia de luz luego de los tratamientos puede revertir ese efecto posiblemente a través de la inducción de mecanismos de reparación mediados por la luz (**Janisiewicz y col. 2016**). En segundo lugar, algunos estudios mostraron efectos favorables de la exposición en precosecha a la radiación UV-C en la inducción de compuestos antioxidantes, en segundo lugar, sólo encontraron efectos favorables en la inducción de compuestos antioxidantes como consecuencia de la exposición a la radiación UV-C en precosecha. (**Erkan y col., 2008; de Oliveira y col., 2016; Severo y col., 2015**). Por otra

parte los resultados muestran variaciones sustanciales entre estudios. Así, mientras que algunos autores informaron mejoras en control del ablandamiento y firmeza e inducción de antioxidantes (Pan y col., 2004; Severo y col., 2015; Xie y col., 2016) esto no se observó en todos los casos (Xie y col., 2015). Además, algunos estudios evidenciaron que el estrés repetido por radiación UV en el campo puede afectar al rendimiento y la actividad fotosintética de las hojas (de Oliveira y col., 2016). A la luz de lo indicado por Cote et al. (2013) es posible que parte de estas variaciones se deban al empleo de diferentes patrones de irradiación entre estudios. Lo cierto, es que hasta la fecha no se cuenta con un esquema de irradiación UV-C en precosecha que pueda asegurar suficientes beneficios para estimular su aplicación.

**Tabla II.1. Publicaciones en las que se han empleado tratamientos UV en frutillas.**

Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Intens (W m <sup>-2</sup> )	Momento y N° aplicaciones	Principales resultados	Referencia
0,25-1	No se informa.	-Poscosecha antes del almacenamiento -Una aplicación	-Control de <i>Botrytis</i> con dosis mayor. -UV-C reducción de tasa de respiratoria, mejoró firmeza. -Cambios en azúcares y acidez	Baka y col., 1999
0,25-4	No se informa.	Después del tratamiento, las frutillas se almacenaron a 20 ± 1 °C o 3 °C	-UV-C redujo la podredumbre por <i>Botrytis</i> . -UV-C aumento la actividad PAL activando la biosíntesis de compuestos fenólicos. -UV-C aumento de la producción de etileno.	Nigro y col., 2000
0,5-1,5	No se informa.	-Poscosecha antes del almacenamiento - Una aplicación	- Control de <i>Botrytis</i> y <i>Monilinia sp.</i> -UV-C retardo el ablandamiento	Marquenie y col, 2002
4,1	No se informa.	-Poscosecha antes del almacenamiento - Una aplicación	- Control de <i>Rhizopus</i> y <i>Botrytis</i> . -Retraso el ablandamiento -Retraso velocidad de germinación de conidios sin impacto en viabilidad	Pan y col., 2004
0,4-4,3	No se informa.		-UV-C promovió la capacidad antioxidante y las actividades enzimáticas -UV-C redujo la descomposición	Erkan y col., 2008
4,1	No se informa.	-Poscosecha antes del almacenamiento -Una aplicación	-Aumento la expresión de enzima de defensa.	Pombo y col., 2011

**Tabla II.2. Publicaciones en las que se han empleado tratamientos UV en frutillas (continuación).**

<b>Dosis (kJ m<sup>-2</sup>)</b>	<b>Intens (Wm<sup>-2</sup>)</b>	<b>Momento y N° aplicaciones</b>	<b>Principales resultados</b>	<b>Referencia</b>
<b>4</b>	3-33	-Poscosecha antes del almacenamiento - Una aplicación	-Identifica a la intensidad como un factor fundamental en la eficacia del tratamiento.	<b>Cote, y col., 2013</b>
<b>3,6</b>	No se informa.	-Seis aplicaciones de floración a madurez comercial	-Sin cambios importantes en antioxidantes	<b>Xie y col., 2015</b>
<b>4,35</b>	No se informa.	Poscosecha	-Aumento de antioxidantes -Aumento de volátiles -Inducción de proteína alergénica.	<b>Severo y col., 2015</b>
<b>3,6</b>	No se informa.	Precosecha. 6 aplicaciones de floración a madurez comercial	-Mejóro firmeza -Sin efecto en azúcares y acidez	<b>Xie y col., 2016</b>
<b>1,23</b>	0,206	Precosecha. 2 veces por semana por 7 semanas.	- Control de moho gris en frutillas bajo túnel	<b>Janisiewicz y col., 2016.</b>
<b>0,5</b>	No se informa.	Precosecha. Desde floración a cosecha las plantas recibieron 28 aplicaciones.	-Reducción de rendimiento y efectos negativos en hojas. -Promovió la activación del metabolismo antioxidante y evitó la podredumbre de la fruta.	<b>de Oliveira y col., 2016</b>
<b>0,6</b>	No se informa.	Durante crecimiento de los frutos Aplicaciones repetidas cada 3, 2, y 1 días por 7 semanas	-Sin alteración de rendimiento. -UV-C mayor firmeza, -Mayor contenido de sacarosa y volátiles. -Mayor capacidad antioxidante y ác. ascórbico	<b>Xu y col., 2017</b>

En la poscosecha las condiciones óptimas a la luz de los trabajos realizados parecen ubicarse en los  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  (Erkan y col., 2008; Pombo y col., 2011; Severo y col., 2015). Con referencia a la intensidad de radiación si bien los estudios que analizan esta variable no abundan la mayor eficacia a la fecha se ha logrado con niveles de  $36 \text{ W m}^{-2}$  (Cote y col., 2013). De todos modos, en poscosecha la ventana de aplicación explorada en contraposición con los trabajos en etapas de cultivo ha sido sumamente estrecha. Así, en frutilla la totalidad de los estudios realizados a la fecha han analiza tratamientos de una única exposición a la radiación antes del almacenamiento. Esto probablemente obedece a que con las condiciones actuales de tratamiento con bancos de irradiación fijos fuera de cámaras de frío esta es la forma más simple (Xu y col., 2017; Severo y col., 2017). También se podría hipotetizar a favor de la realización de los tratamientos al inicio del almacenamiento que cuanto más temprano se realicen mayor será la repuesta potencial en términos de retraso de maduración (Charles y col., 2003; Liu y col., 1993). De todos modos, de momento esto resulta especulativo y por ello sería de interés estudiar si es posible ampliar la ventana de irradiación hacia adelante en el periodo de almacenamiento poscosecha y evaluar si este nuevo patrón de exposición modula la eficacia de los tratamientos. Al respecto existen diferentes alternativas que no se han evaluado: una podría ser realizar aplicaciones repetidas a lo largo del almacenamiento lo que redundaría en una mayor dosis final. Otra forma de exposición a la radiación UV-C implicaría fraccionar las aplicaciones a fin de alcanzar dosis totales similares a las empleadas en el método convencional.

## **II.2. OBJETIVO**

- *Establecer la eficacia de tratamientos UV-C distribuidos a lo largo del periodo poscosecha, respecto de tratamientos UV-C convencionales de una única exposición antes del almacenamiento, para mantener la calidad de frutilla refrigerada.*

### II.3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### II.3.1. Material vegetal y tratamientos

Se cosecharon frutillas cv. Camarosa producidas en invernadero en La Plata Argentina, con 100% de color superficial rojo y se trasladaron inmediatamente al laboratorio. Los frutos se seleccionaron para eliminar aquellos con defectos de forma, uniformidad, tamaño o daño mecánico y se colocaron en bandejas plásticas de PET (20 x 10 x 5) que se ubicaron debajo de un banco de irradiación descrito en el **Capítulo I**, y se sometieron a los siguientes tratamientos:

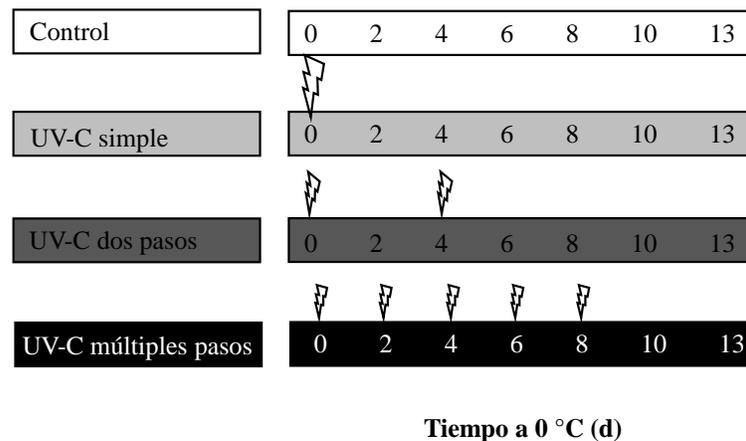
**Control:** frutos sin irradiar.

**UV-C simple:** frutos sometidos a un tratamiento de irradiación con una dosis de 4,0 kJ m<sup>-2</sup> en una única aplicación antes del almacenamiento.

**UV-C dos pasos:** Sometidos a 2 exposiciones sucesivas de 2,0 kJ m<sup>-2</sup> al inicio y a los 4 días de almacenamiento.

**UV-C múltiples pasos:** frutos sometidos a 5 exposiciones sucesivas de 0,8 kJ m<sup>-2</sup> a los 0, 2, 4, 6 y 8 días de almacenamiento.

El esquema de tratamientos realizados se resume en la **Figura II.1**. La intensidad de irradiación fue de 36 W m<sup>-2</sup> en todos los casos. Los frutos se almacenaron a 0 °C por 10 ó 13 d.



**Figura II. 3. Esquema de tratamientos UV-C empleados en el presente estudio.**

Cada bandeja contenía 10 frutos y se realizaron tres bandejas independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. El almacenamiento se realizó a 0 °C y 90% de humedad relativa durante 13 días. A diferentes tiempos se tomaron muestras y utilizaron inmediatamente para evaluar la calidad de los frutos o bien se almacenaron a -20 °C hasta su uso. El ensayo completo se realizó por duplicado.

### **II.3.2. Determinaciones analíticas**

#### ***II.3.2.1. Incidencia de podredumbres***

La incidencia de podredumbres se evaluó mediante una inspección visual y se expresó como el porcentaje de frutos atacados.

#### ***II.3.2.2. Tasa respiratoria***

La producción de dióxido de carbono se midió con un sensor infrarrojo para dicho gas (Alnor Compu-flow, Model 8650, Alnor, Estados Unidos). Aproximadamente 100 g de frutos se colocaron en un recipiente hermético y se determinó la producción de los gases en función del tiempo. La tasa respiratoria fue medida antes del almacenamiento y luego de 10 y 13 días a 0 °C. Se realizaron tres determinaciones para cada tiempo de almacenamiento y tratamiento. Los resultados se expresaron como mL de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

#### ***II.3.2.3. Recuento de mohos y levaduras***

Se realizó un recuento en placas de mohos y levaduras como se describió en el **Capítulo I**. Los resultados se expresaron como log de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de fruta fresca.

#### ***II.3.2.4. Pérdida de peso***

Las bandejas se pesaron antes de la refrigeración y durante el período de almacenamiento. La pérdida de peso se calculó como se describió en el **Capítulo I**. Se realizaron seis mediciones para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **II.3.2.5. Color superficial**

Se midió el color del cáliz y el receptáculo del fruto con un colorímetro para obtener los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y el ángulo Hue ( $\text{tg}^{-1} b^*/a^*$ ). Para la evaluación del color del receptáculo de la frutilla se realizaron tres mediciones en cada fruto y se promediaron. Se realizaron 30 medidas para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **II.3.2.6. Firmeza**

Se realizó un ensayo de penetración empleando un texturómetro como describió en el **Capítulo I** con ligeras modificaciones. En este caso los frutos enteros se midieron en la zona ecuatorial en forma perpendicular al eje principal. Cada fruto se comprimió con una sonda plana de 3 mm de diámetro a una distancia de 4 mm a una velocidad de  $1 \text{ mm s}^{-1}$ . Se registró la fuerza máxima durante ensayo y los resultados se expresaron en Newton (N). Se realizaron cuarenta mediciones por cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **II.3.2.7. Sacarosa, glucosa y fructosa**

Se pesaron 50 g de frutilla se trituraron en un molinillo y 1 g del polvo resultante se homogeneizó con 10 mL de etanol y se agitó en vórtex durante 1 min. La mezcla se centrifugó a  $9.000 \times g$  durante 10 min a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ; el sobrenadante se recuperó y se filtró a través de una membrana RC de 0,2 mm (Cole-Parmer, Estados Unidos) y se llevó a 50 mL con agua desionizada. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento (HPLC, Waters 1525, Waters Corp., Estados Unidos), equipado con una bomba binaria, un detector de índice de refracción (Waters, IR 2414) y una columna Hypersil Gold Amino (4,6 x 250 mm, 5 mm, ThermoSci., Estados Unidos). Las muestras se analizaron isocráticamente con una velocidad de flujo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  de acetonitrilo:agua (70:30). Se realizaron tres extractos por tratamiento y tiempo de almacenamiento. Las muestras se corrieron por duplicado y se promediaron los valores obtenidos. Para la identificación y cuantificación se emplearon soluciones estándar de glucosa, fructosa y sacarosa. Los resultados se expresaron como gramo de los diferentes azúcares por kilogramo de peso fresco.

#### **II.3.2.8. Acidez**

Las determinaciones se realizaron de acuerdo a **AOAC (1980)** tal como se describió en el **Capítulo I**. Se analizaron tres muestras por tratamiento y tiempo de almacenamiento. Los resultados se expresaron como meq. H<sup>+</sup> cada 100 g de peso fresco.

#### **II.3.2.9. Ácido ascórbico**

Las frutillas se congelaron en nitrógeno líquido, se procesaron en un molinillo y se homogeneizaron. Se pesó 1 g del polvo obtenido con 5 mL de ácido metafosfórico 2,5% p/v. La mezcla se agitó en vórtex durante 1 minuto y luego se centrifugó a 12.000 × g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se recuperó y filtró a través de 0,45 µm (MA 01581, Acetate plus MA, Estados Unidos) y la determinación se realizó mediante el uso de un cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento (HPLC, Waters 1525, Waters Corp., Estados Unidos), equipado con una bomba binaria, un detector de matriz de fotodiodos y una columna C18 (4,6 x 150 mm, 5 mm). La fase móvil fue ácido metafosfórico 0,5% p/v en acetonitrilo:agua (93:7) a un caudal isocrático de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. La longitud de onda para la detección fue 245 nm. Para la identificación y cuantificación se empleó una solución estándar de ácido ascórbico. Se obtuvieron dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Las muestras se analizaron por duplicado y se promediaron los valores obtenidos. Los resultados se expresaron en gramos de AsA por kg de peso fresco.

#### **II.3.2.10. Evaluación sensorial**

Se realizó una evaluación sensorial visual de la fruta mediante una prueba de aceptabilidad utilizando una escala hedónica de 9 puntos. A los panelistas se les ofrecieron simultáneamente bandejas que contenían 10 frutillas enteras que tenían un tamaño y forma similares de control, *UV-C un paso*, *UV-C dos pasos* y *UV-C múltiples pasos*. La fruta se evaluó después de 10 días de almacenamiento a 0 °C. Se pidió a los panelistas que indicaran su aceptabilidad en una escala hedónica de 9 puntos, siendo 1: inaceptable y 9: muy aceptado. La evaluación consideró aquellos atributos que pueden ser considerados en una decisión de compra inicial (color del cáliz, color del receptáculo, frescura y aceptabilidad general). El panel estuvo integrado por 100 evaluadores no entrenados con una distribución equitativa de hombres y mujeres y con un rango de edad de 25 a 35 años.

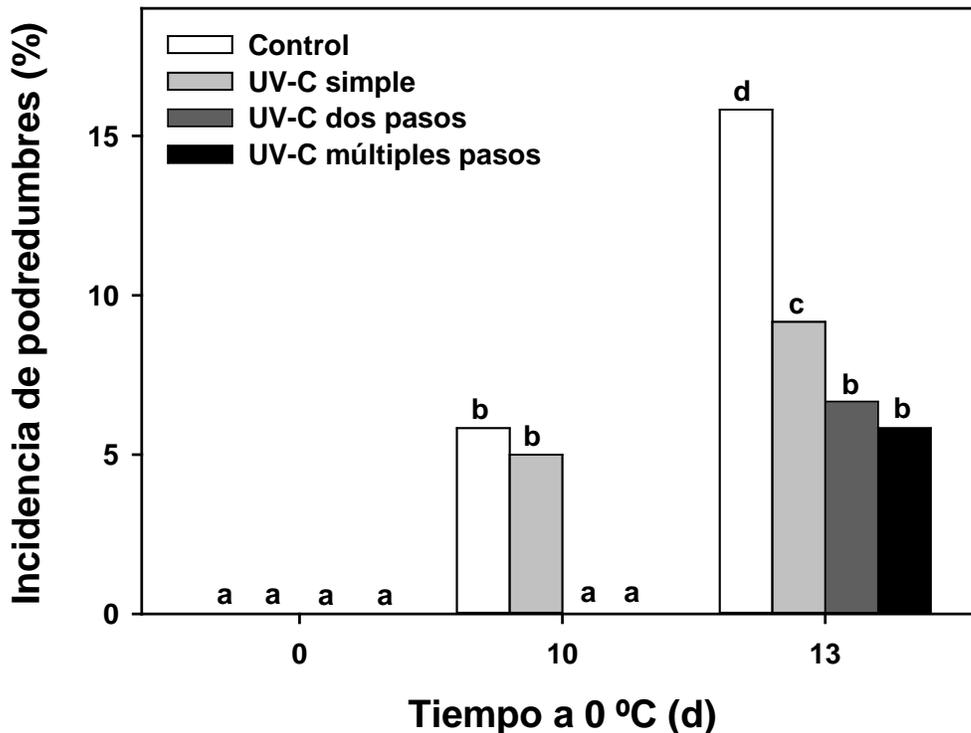
### **II.3.3. Análisis estadístico**

Los supuestos del modelo de homogeneidad de varianza y normalidad se probaron mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. En el caso de ser necesario se realizaron las transformaciones respectivas de las variables. Las muestras se analizaron mediante un ANOVA con el software INFOSTAT. Las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de rango studentizado de Fisher ( $P < 0,05$ ).

## II.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### II.4.1. Incidencia de podredumbres

A los 10 días de almacenamiento los frutos control o con tratamiento UV simple comenzaron a presentar podredumbres. Contrariamente los frutos tratados con UV-C en dos o múltiples pasos no mostraron ataque fúngico (**Figura II.2**). Después de 13 días a 0 °C, se observó un significativo aumento en el porcentaje de frutos atacados en los frutos control. A este tiempo de evaluación las frutillas tratadas de forma convencional (UV-C simple) presentaron un menor porcentaje de podredumbres que el control. Esto es coincidente con trabajos anteriores que muestran que la irradiación UV en una única dosis de  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  permite controlar a *Botrytis cinerea* (Cote, y col., 2013; Pan y col., 2004). Resulta importante destacar que aquí nuevamente la irradiación fraccionada en dos y múltiples pasos fue significativamente más efectiva para controlar las podredumbres que la irradiación individual previa al almacenamiento.

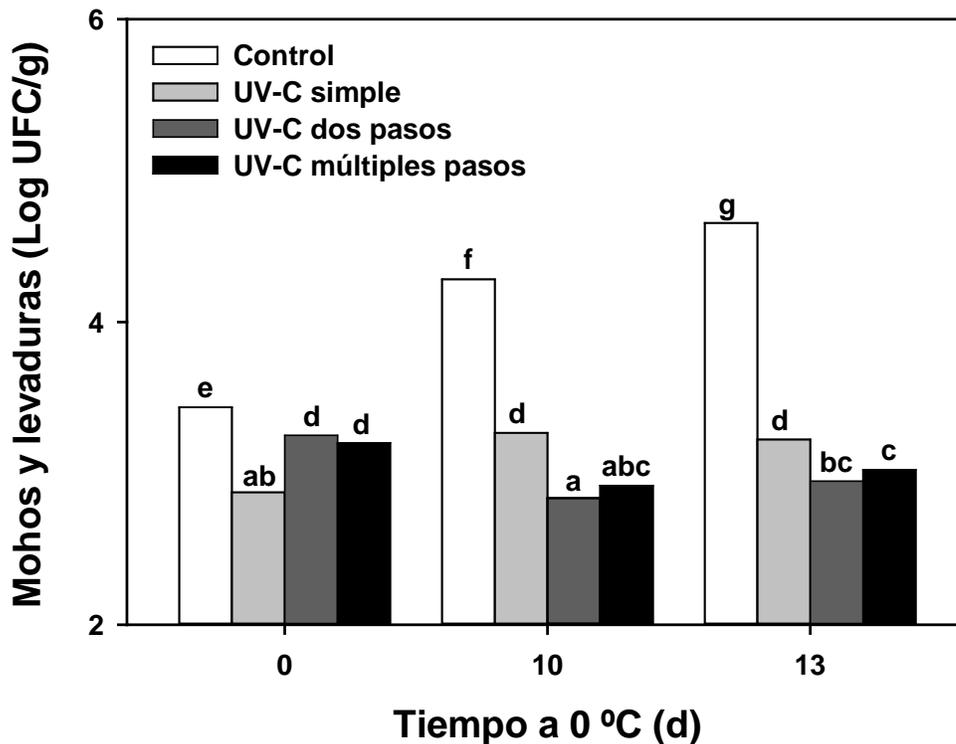


**Figura II.4.** Incidencia de podredumbres en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos, 2 x  $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos, 5 x  $0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

#### **II.4.2. Recuento de hongos**

A fin de comprender el impacto del modo de aplicación de la radiación UV-C en la microflora nativa se realizaron recuentos en placa de hongos en los frutos sometidos a los diferentes tratamientos (**Figura II.3**). Los mayores recuentos de colonias encontrados fueron principalmente de levaduras (datos no mostrados). Al momento de cosecha los frutos control presentaron recuentos de  $3,4 \log \text{ UFC g}^{-1}$ . Inmediatamente después de la irradiación se detectó una disminución significativa en los recuentos de levaduras en todos los tratamientos UV. De todos modos, esa reducción fue en términos absolutos pequeña (0,3 a 0,6 ciclos logarítmicos). La mayor reducción se observó en tratamientos de una sola aplicación ( $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ) previo al almacenamiento. **Mercier y col., (2001)** han demostrado que la inactivación directa de microorganismos por radiación ultravioleta depende en gran medida de la dosis de radiación. De todos modos, en el presente trabajo no se evidenciaron diferencias entre los tratamientos de dos y múltiples pasos que difirieron en las dosis efectivas aplicadas en forma previa al almacenamiento. En este caso, se observó una reducción significativa pero moderada de aproximadamente 0,25 ciclos logarítmicos. Posteriormente durante 10 días de almacenamiento los recuentos de hongos aumentaron ( $\sim 1$  ciclo logarítmico) en las frutillas control. Los frutos sometidos al tratamiento UV-C simple o convencional también mostraron una tendencia creciente. Un aspecto de interés fue que los recuentos de hongos viables en frutos sometidos a UV-C de dos y múltiples pasos no mostraron variaciones a lo largo del almacenamiento. Esto indica que, para una dosis de radiación total similar, la exposición repetida a dosis bajas de UV-C *in vivo* resultó en una más eficaz reducción de hongos que la irradiación convencional antes del almacenamiento. Este efecto podría deberse a una acción directa de la radiación. En línea con esta posibilidad, se ha descrito que dependiendo de la especie considerada pueden existir efectos letales en hongos con dosis relativamente pequeñas de radiación UV-C aplicada a repetición (**Sinha y Häder, 2002; Nhung y col., 2012**). Otra alternativa posible de la mejora observada en los tratamientos fraccionados en el control de podredumbres respecto al tratamiento convencional es un mejor mantenimiento de las barreras estructurales de defensa de los frutos como la pared celular. Este aspecto se estudia en detalle en el **Capítulo III**. Por otra parte, varios estudios han descrito a la inducción de respuestas defensivas en los frutos tales como la acumulación de fitoalexinas

(Ben-Yehoshua, 1992), la inducción de enzimas defensivas como quitinasas y  $\beta$ -1,3 glucanasas (Pombo y col., 2011) o la mejora en las defensas antioxidantes (Nigro y col., 2000; Erkan y col., 2008) como una parte importante involucrada en el control de enfermedades derivado de la irradiación UV-C en frutos. En ese sentido, podría hipotetizarse que los tratamientos UV-C repetidos a lo largo de la poscosecha permiten aumentar estas respuestas. Esto se evalúa en el **Capítulo IV**.



*Figura II.5. Recuento de mohos y levaduras en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

#### II.4.3. Tasa respiratoria

La tasa respiratoria de las frutillas mostró una tendencia creciente durante el almacenamiento tanto en los frutos control como tratados (**Figura II.6**). Si bien la frutilla tiene un patrón de respiración no climatérico en el almacenamiento, trabajos anteriores informaron que la producción de CO<sub>2</sub> puede aumentar especialmente después de un

almacenamiento a largo plazo (Vicente y col., 2006). Esto se ha relacionado principalmente con las condiciones de estrés prolongado que se producen en el entorno posterior a la cosecha, como la carencia de agua y nutrientes y el ataque de patógenos que pueden provocar daños en los frutos (Li y Kader, 1989). Luego de 10 y 13 días de almacenamiento no se encontraron diferencias entre frutos control y tratados, independientemente del patrón de irradiación empleado

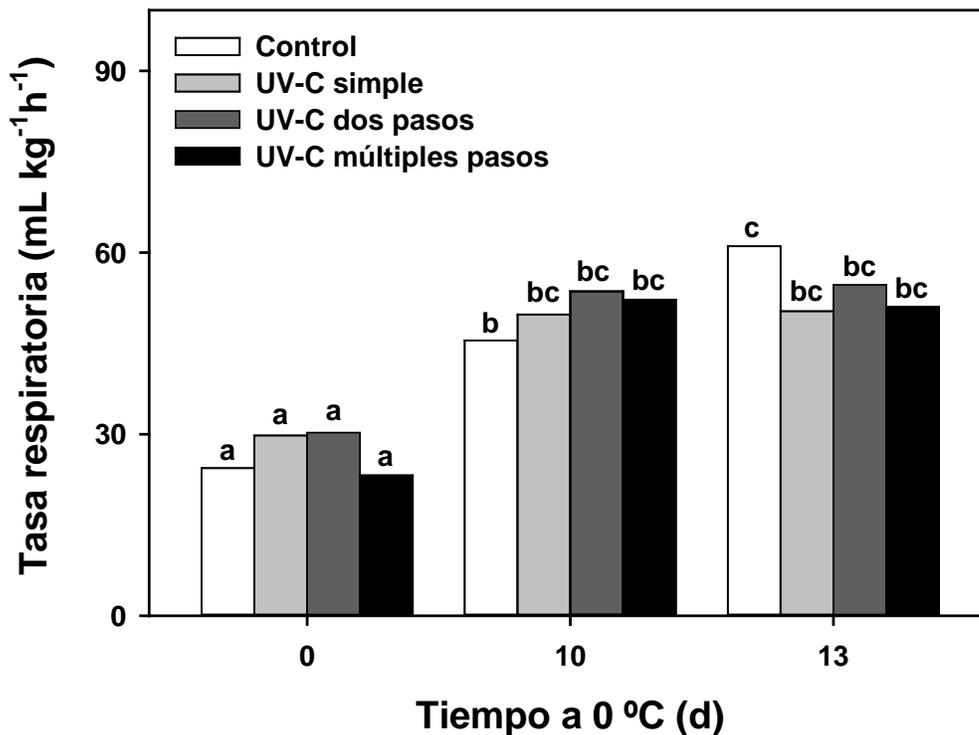


Figura II.6. Tasa respiratoria en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

#### II.4.4. Pérdida de peso

Los tratamientos UV-C redujeron la pérdida de peso de las frutillas en forma marcada. Después de 10 y 13 días, todos los tratamientos con UV-C redujeron la pérdida de peso, independientemente del patrón de exposición a la radiación. El efecto observado en la reducción de la pérdida de peso fue más marcado en el caso de los frutos sometidos al

tratamiento fraccionado (**Figura II.7**) sin diferencias significativas entre los tratamientos en dos o múltiples pasos. Trabajos previos informaron que los tratamientos en forma convencional con radiación UV en dosis total e intensidades similares a la empleada en el presente estudio, pueden ser valiosos para reducir la pérdida de agua en frutilla (**Cote y col., 2013**). En manzana mínimamente procesada, la menor pérdida de agua observada como consecuencia de la irradiación UV-C se asoció con la formación de una delgada capa de deshidratación parcial a nivel epidérmico que podría aumentar la resistencia al flujo de vapor de agua desde el producto hacia el medio circundante (**Manzocco y col., 2011**). Otros efectos potenciales inducidos por la radiación UV que pueden afectar la tasa de pérdida de agua incluyen cambios en la deposición de cera en la superficie (**Charles y col., 2008**) y modificaciones en el grado de cierre estomático (**He y col., 2011**). De todos modos estas respuestas parecen menos probables dada la baja temperatura de almacenamiento y con ella la ralentización del metabolismo celular. Resulta de interés profundizar los estudios a fin de determinar si estos mecanismos se encuentran involucrados en los efectos de la irradiación UV-C en el control de la deshidratación y más aún si permiten explicar la mejor performance en este atributo alcanzada con las frutillas irradiadas en forma repetida a largo del almacenamiento respecto al tratamientos *UV-C simple*.

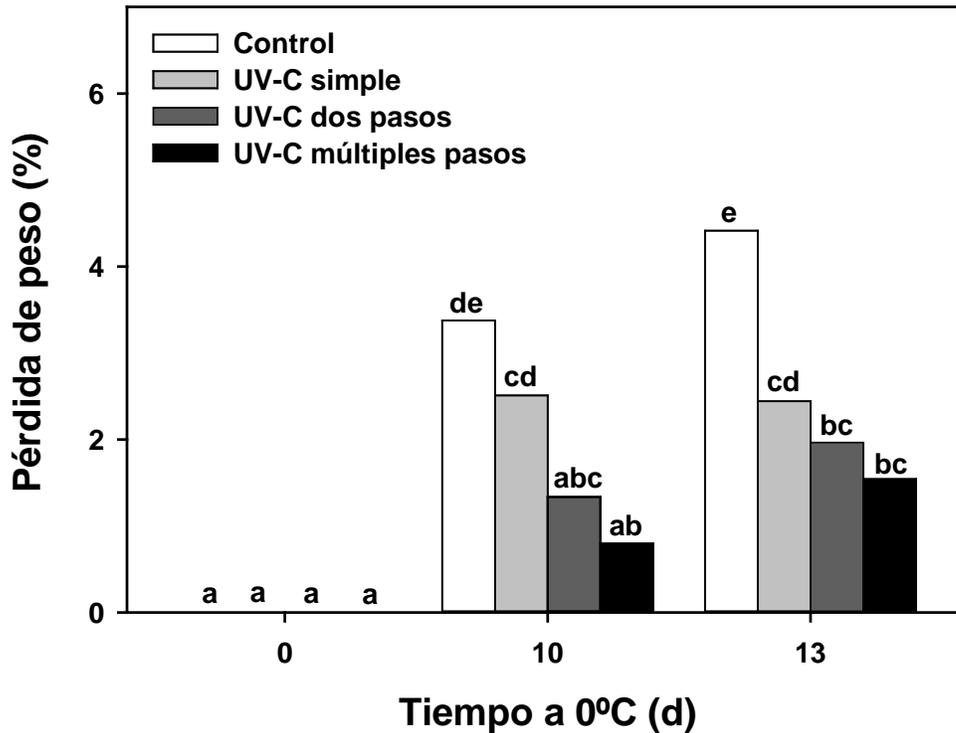
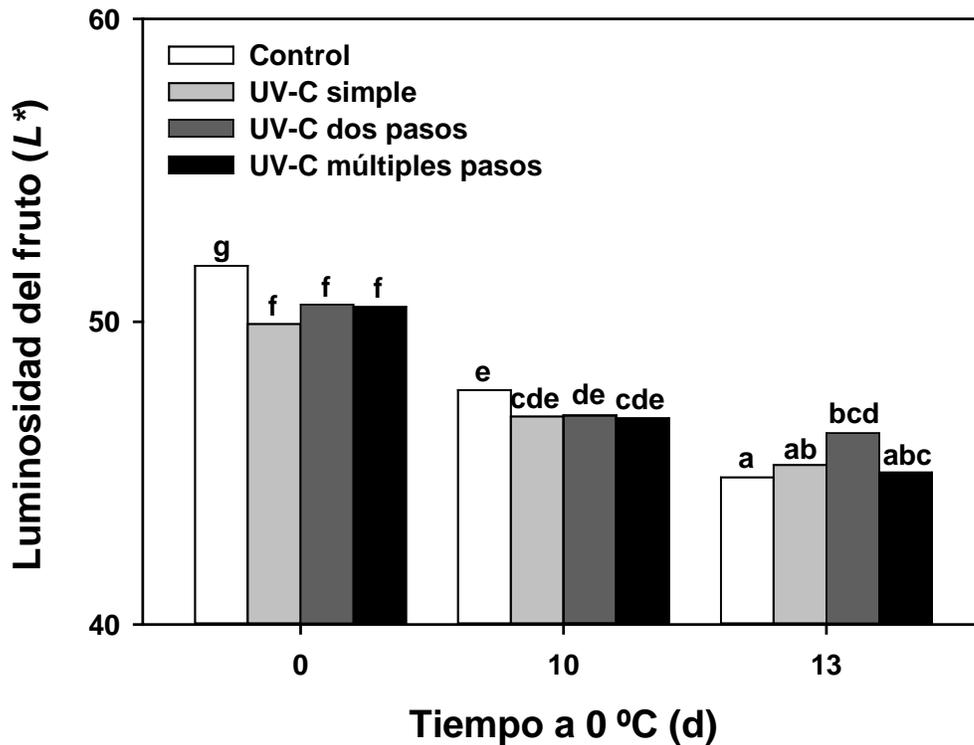


Figura II.7. Pérdida de peso en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple,  $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

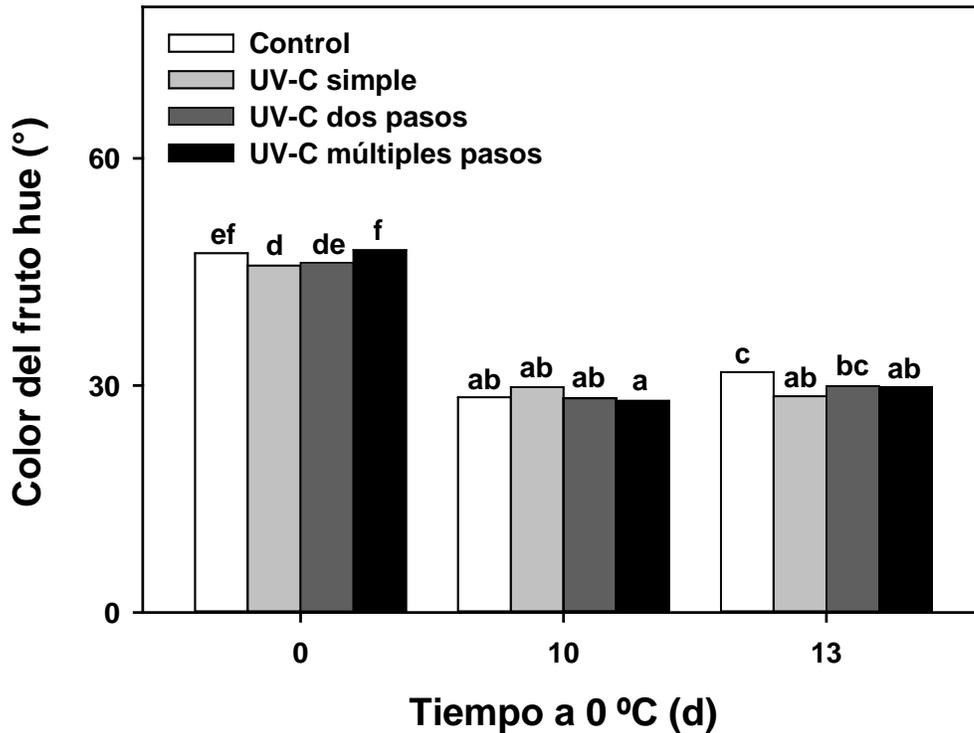
#### II.4.5. Color superficial

La luminosidad de la frutilla disminuyó indicando que la maduración progresó incluso durante el almacenamiento a  $0^\circ\text{C}$  (Figura II.8). Los tratamientos UV indujeron una ligera reducción de la luminosidad del receptáculo ( $L^*$ ). Sin embargo, este efecto fue muy limitado en comparación con el pardeamiento registrado durante el período de almacenamiento de 13 días. En este último punto del almacenamiento, la aplicación de UV-C en dos pasos causó una menor pérdida de luminosidad que el control. Esto es consistente con los resultados reportados por Pan y col. (2004) quienes encontraron cambios sutiles de color mencionando que dos aplicaciones de radiación UV-C redujeron la pérdida de luminosidad del receptáculo ( $L^*$ ).



*Figura II.8. Luminosidad en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

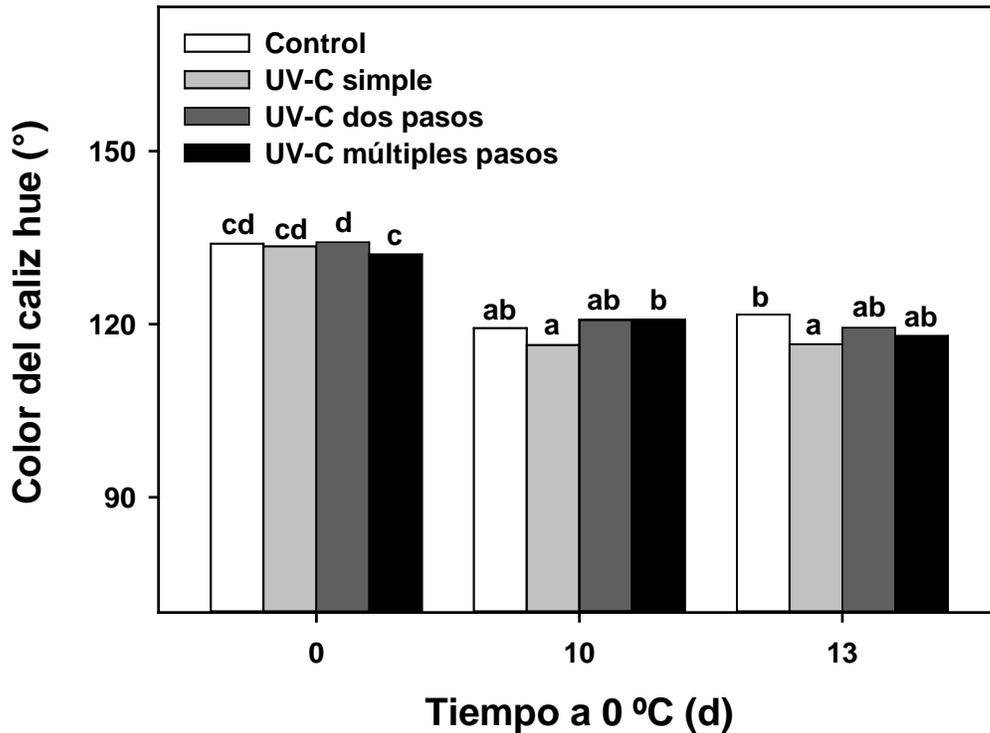
Inmediatamente luego del tratamiento no se detectaron cambios en el valor de Hue entre los frutos control y tratados (**Figura II.9**). Conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, se observó una reducción en el ángulo Hue tanto de frutos control como tratados indicando un progreso del proceso de maduración. Las variaciones registradas entre tratamientos fueron mucho menos marcadas que las observadas en función del tiempo de almacenamiento (**Figura II.7**).



*Figura II.9. Color (hue) en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

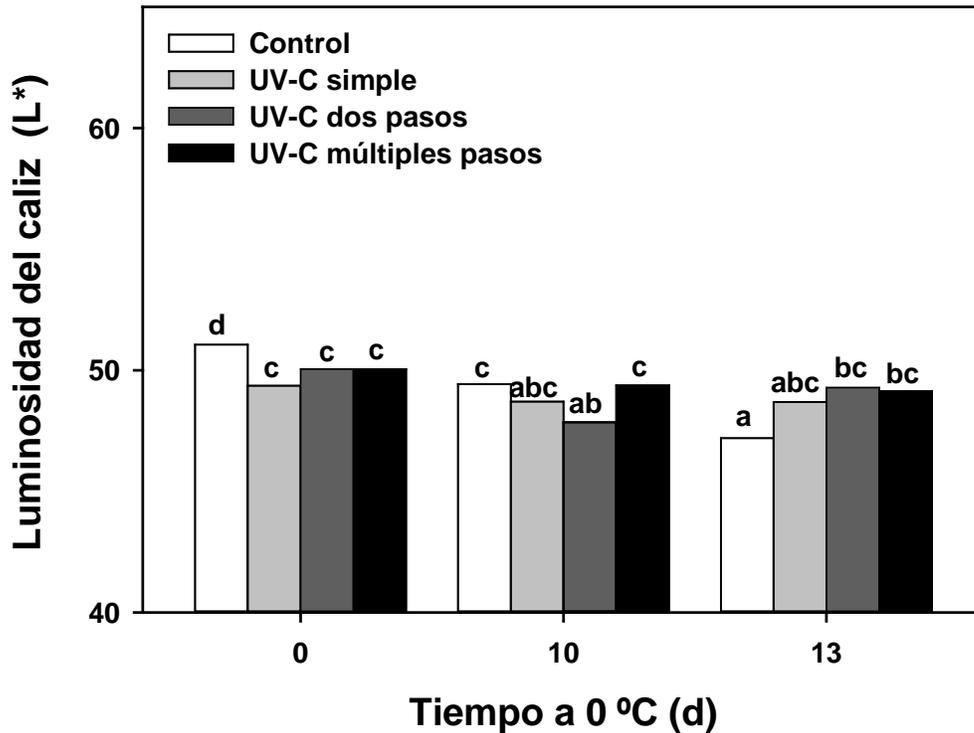
#### II.4.6. Color del cáliz

El ángulo Hue del cáliz se redujo en todos los tratamientos durante el almacenamiento indicando la pérdida de clorofila (Marquenie y col., 2002). Aquí, del mismo modo que para el color del receptáculo, el efecto del tiempo de almacenamiento fue superior al de los tratamientos (Figura II.10).



*Figura II.10. Color (Hue) del cáliz en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

La luminosidad del cáliz mostró reducción en los frutos que fueron irradiados independientemente de la dosis aplicada. De todos modos, esta tendencia se revirtió durante el almacenamiento. Así luego de 13 días el cáliz de los frutos tratados con UV-C en dos o múltiples aplicaciones mantuvieron una mayor luminosidad que los respectivos controles indicando un retraso en el pardeamiento que resulta positivo desde el punto de vista del mantenimiento de la calidad (**Figura II.11**).

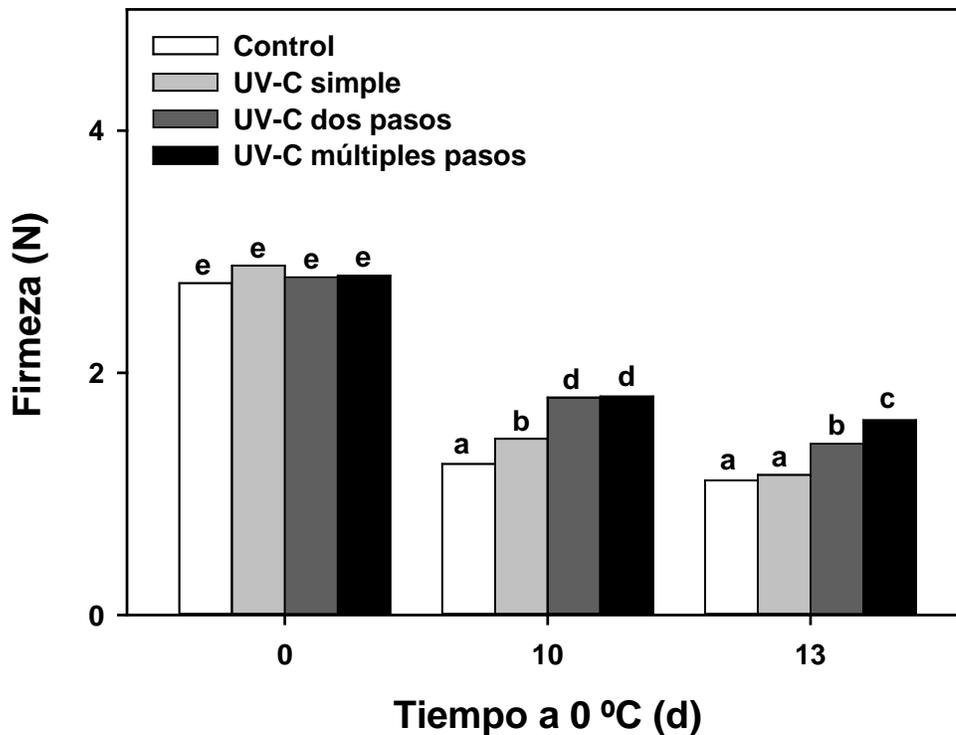


*Figura II.11. Luminosidad del cáliz en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

#### II.4.7. Firmeza

Si bien todos los tratamientos mostraron una significativa reducción en la firmeza luego de 10 días de almacenamiento refrigerado, el ablandamiento fue menor en los frutos tratados con radiación UV-C (**Figura II.12**). A su vez aquí se observaron diferencias en la firmeza dependiendo del patrón de aplicación de los tratamientos UV-C. Así, la aplicación repetida en dos o múltiples pasos resultó en una retención más eficaz de la firmeza que la irradiación UV-C convencional al final del almacenamiento. Mientras que los frutos control no difirieron en la firmeza de los sometidos al tratamiento UV-C simple al final del periodo de almacenamiento. Contrariamente, las frutillas sometidas a tratamientos repetidos preservaron mayor firmeza, con un efecto más marcado al aumentar el número de aplicaciones de UV-C. Si bien varios estudios han informado que los tratamientos UV-C convencionales pueden

retrasar el ablandamiento, el efecto más intenso derivado del fraccionamiento de la dosis total y su aplicación por exposiciones sucesivas en el almacenamiento no ha sido descrito con antelación. Este es un aspecto en el que resulta de interés profundizar y se estudia en mayor detalle en el **Capítulo III**.



*Figura II.12. Firmeza en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

#### **II.4.8. Azúcares, acidez y ácido ascórbico**

La glucosa mostró una leve tendencia creciente en el almacenamiento, mientras que el contenido de fructosa y sacarosa descendió (**Tabla II.2**). Más allá de los cambios derivados del tiempo de almacenamiento no se detectaron diferencias entre frutos control y tratados con UV-C.

Finalmente, la acidez y el contenido de ácido ascórbico no mostraron cambios importantes ni durante el almacenamiento ni en función de los tratamientos (**Tabla II.2**).

Esto es de interés puesto que algunos estudios previos en otros productos informaron una reducción en el nivel de vitamina C luego de la irradiación UV-C (Alothman y col., 2009; Artés-Hernández y col., 2010; Maharaj y col., 2014). Los resultados del presente trabajo indican que los tratamientos UV-C convencionales de  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  con una intensidad de  $36 \text{ W m}^{-2}$  no alteran sustancialmente los componentes más relevantes asociados con el sabor o calidad nutricional de la frutilla. Por otra parte, muestran que la aplicación de esta misma dosis total de radiación en forma fraccionada tampoco afecta en forma negativa estos atributos lo cual resulta deseable.

*Tabla II.3. Azúcares, acidez y ácido ascórbico en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple,  $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ °C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

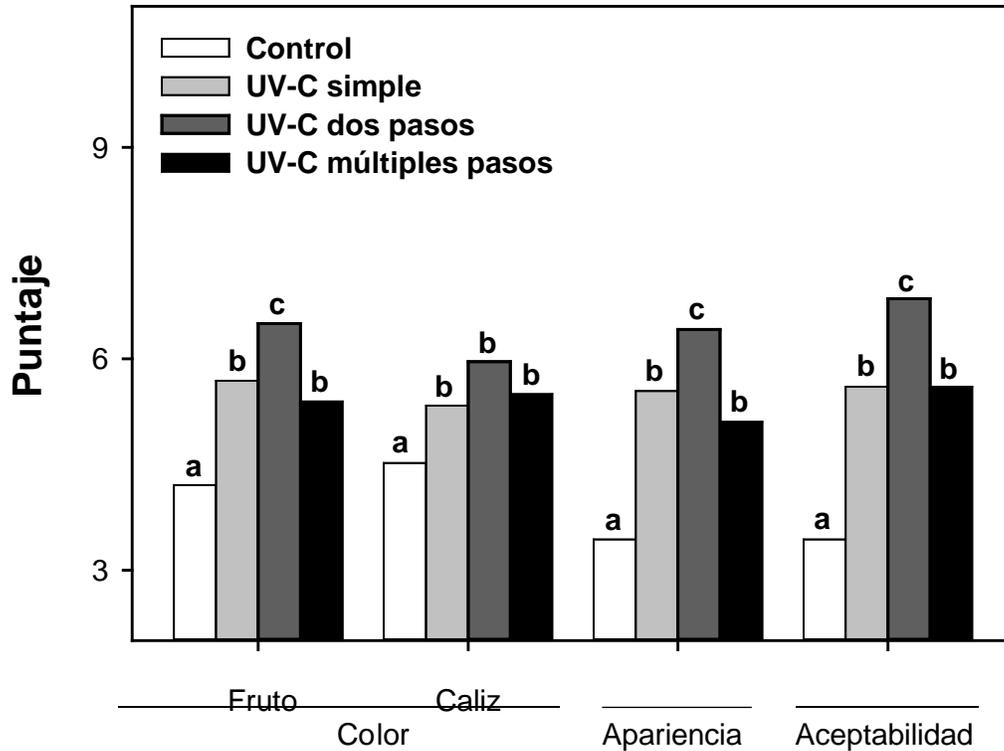
Tratamiento		Tiempo a $0 \text{ °C}$ (d)		
		0	10	13
<b>Glucosa(%)</b>	Control	1,2abc	1,2ab	1,5c
	UV-C simple	1,1ab	1,1ab	1,5c
	UV-C dos pasos	1,0a	1,1a	1,5c
	UV-C múltiples pasos	1,0a	1,0a	1,5c
<b>Fructosa (%)</b>	Control	1,5c	1,5c	1,1a
	UV-C simple	1,3bc	1,4bc	1,0ab
	UV-C dos pasos	1,2abc	1,3abc	0,9ab
	UV-C múltiples pasos	1,2abc	1,3abc	0,8ab
<b>Sacarosa (%)</b>	Control	1,5c	1,6c	0,7a
	UV-C simple	1,4bc	1,5c	0,8ab
	UV-C dos pasos	1,5c	1,6c	0,8ab
	UV-C múltiples pasos	1,36c	1,5c	0,8ab

**Tabla II.4. Azúcares, acidez y ácido ascórbico en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05. (continuación)**

Tratamiento		Tiempo a 0 °C (d)		
		0	10	13
<b>Acidez</b> (meq. H <sup>+</sup> 100 g <sup>-1</sup> )	Control	3,28ab	3,26ab	3,09a
	UV-C simple	4,02c	3,22ab	3,23ab
	UV-C dos pasos	3,25bc	3,23ab	3,28ab
	UV-C múltiples pasos	3,28ab	3ab	3,23ab
<b>Ác. ascórbico</b> (g kg <sup>-1</sup> )	Control	0,3473a	0,4612abc	0,3499a
	UV-C simple	0,4163abc	0,522c	0,3796ab
	UV-C dos pasos	0,3979ab	0,4ab	0,4611abc
	UV-C múltiples pasos	0,4522abc	0,4812bc	0,4483abc

#### **II.4.9. Evaluación sensorial**

Finalmente, se llevó a cabo un panel de evaluación sensorial para evaluar si los consumidores no entrenados eran capaces de detectar diferencias entre las frutillas control y tratadas con UV-C que pudieran afectar su decisión de compra. A los 10 días de almacenamiento, la frutilla sometida a irradiación UV-C en dos etapas tuvo las puntuaciones más altas en color, frescura y aceptabilidad general que la fruta control (**Figura II.11**). A pesar de la falta de diferencias en los valores de color instrumental, los consumidores prefirieron frutas tratadas con UV. Basado en un análisis más detallado de tal discrepancia, la puntuación más alta de los panelistas para las frutas irradiadas se debió a un mayor brillo, que puede ser consecuencia a la menor deshidratación de la superficie más que al contenido de antocianinas. Los puntajes para todos los atributos después de 13 días de almacenamiento también fueron más altos para los tratamientos de dos y múltiples pasos.



*Figura II.13. Evaluación sensorial en frutilla control o tratada con diferentes niveles de fraccionamiento de la radiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

## **II.5. CONCLUSIONES**

Los resultados muestran que la aplicación de tratamientos UV-C distribuidos a lo largo del periodo poscosecha es más eficaz para mantener la calidad de frutilla refrigerada que el tratamiento UV-C convencional en una única exposición antes del almacenamiento. Los frutos sometidos a tratamiento UV-C en dos y múltiples pasos mostraron un menor ataque fúngico y pérdida de peso y un retraso en el ablandamiento. Por otra parte, el cáliz de los frutos sufrió menor pardeamiento. El modo de aplicación de los tratamientos UV-C no ejerció un impacto importante en los niveles de azúcares, acidez y ácido ascórbico. Finalmente, en un ensayo sensorial, consumidores no entrenados otorgaron un mayor puntaje en términos de aceptabilidad global a los frutos sometidos a los tratamientos UV-C en dos pasos.



## **CAPÍTULO III**

**Efectos superficiales de la aplicación de pulsos de irradiación UV-C en frutilla: Impacto sobre la textura y el metabolismo de paredes celulares.**

### **III.1. INTRODUCCIÓN**

En el capítulo anterior se observó que uno de los efectos más relevantes encontrados cómo consecuencia del fraccionamiento de los tratamientos UV-C en frutilla era el retraso en el ablandamiento de los frutos. Esto ya había sido descrito para los tratamientos UV-C convencionales de una única exposición antes del almacenamiento (**Pan y col., 2004**). Contrariamente, las mejoras en el retraso del ablandamiento derivadas de la realización de tratamientos fraccionados respecto a los convencionales no se habían descrito con antelación. El ablandamiento poscosecha es un grave problema en frutos almacenados. En el caso de los *berries* es uno de los principales factores limitantes respecto de su conservación (**Wang y col., 2018**). La textura tiene un impacto directo en la aceptación del consumidor y determina en gran medida la susceptibilidad a los hongos de poscosecha (**Vicente y col., 2005**). El ablandamiento de los frutos se ha asociado con una serie de fenómenos diversos dentro de los que se destacan la expansión de las células en aquellas especies en las que la maduración y el crecimiento se solapan con la presión de turgencia (**Shackel y col., 1991**). De todos modos, uno de los procesos que más se ha relacionado con las modificaciones texturales que ocurren en la maduración es la degradación de las paredes celulares.

#### **III.1.1. Pared celular vegetal: Una estructura compleja y dinámica**

La pared celular vegetal primaria está formada principalmente por polisacáridos (90 - 95% del total) y en menor medida por proteínas, minerales y compuestos fenólicos (**Amos y Mohnen, 2019; Gigli-Bisceglia y col., 2020**). Dentro de los polisacáridos se encuentran tres grupos principales: la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas en proporciones que oscilan entre 30 y 40% cada una. En frutos, la fracción de pectinas suele ser particularmente abundante respecto a otros órganos vegetales. Los componentes pécticos se ubican en la estructura de la pared mezclados con la matriz de celulosa y hemicelulosa, laminilla media (**Figura III.1**)

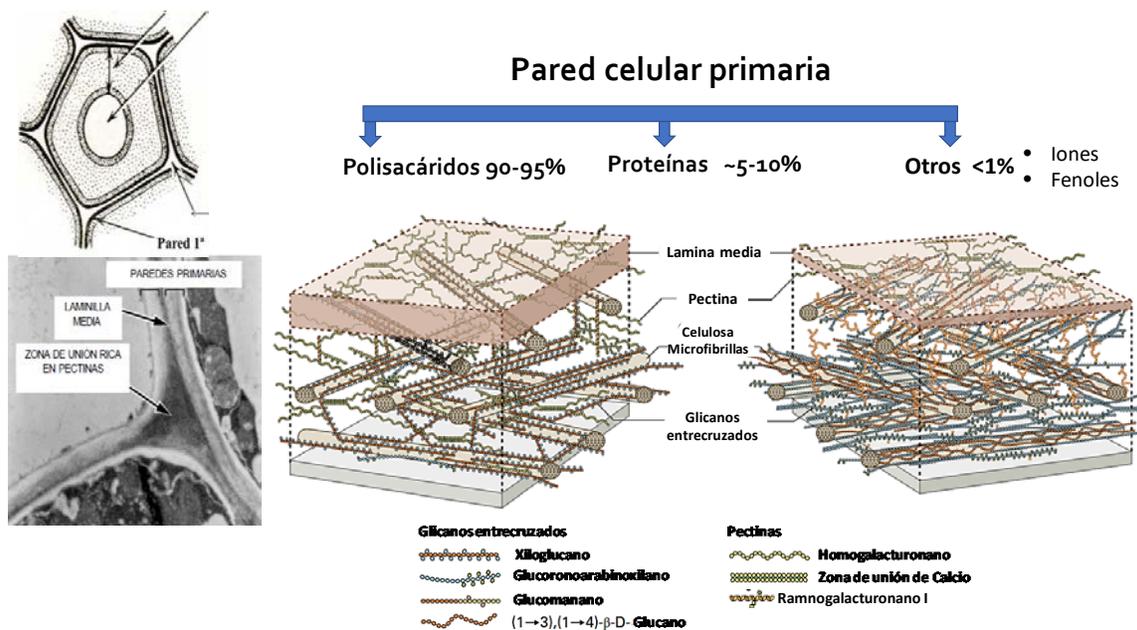


Figura III.1. Composición de pared celular primaria adaptado de Carpita y Mc Cann, (2015).

**Celulosa:** Es el polímero orgánico natural más abundante en la naturaleza. Químicamente se trata de un homopolímero compuesto por cadenas lineales de D-glucopiranosas unidas por el enlace ( $\beta$ -1,4). Las cadenas presentan hasta 10.000 residuos glucosídicos y se agrupan entre sí por puentes de hidrógeno formando una estructura supra molecular (microfibrillas) que le otorga un ordenamiento pseudo cristalino y le concede elevada resistencia al ataque enzimático (Cosgrove, 2000).

**Hemicelulosa:** Es un grupo heterogéneo de polisacáridos cuyos miembros tienen en común su capacidad de ser extraíbles de las paredes mediante el empleo de solventes alcalinos. Interactúan marcadamente con la celulosa mediante puentes de hidrógeno, formando una matriz de ambos polisacáridos que da resistencia estructural a la pared (Scheller y Ulvskov, 2010). Las hemicelulosas más comúnmente halladas son los xiloglucanos, glucomananos y xilanos.

**Xiloglucano:** Es la hemicelulosa más abundante en las especies Dicotiledóneas, que representan a la mayor parte de las frutas y hortalizas cultivadas. Se trata de un polímero

ramificado. Su cadena principal consiste en enlaces  $\beta$ -(1-4)-glucano que tienen entre 300 y 3000 residuos de glucosa. Lateralmente presenta residuos de xilosa, galactosa y en menor medida fructosa, difiriendo las características de las ramificaciones según la especie (**Hoffman y col., 2005**). El xiloglucano mantiene las microfibrillas separadas, lo que aumenta la elasticidad de la pared. (**Pauly y col., 1999**).

**Glucomananos:** Son polímeros de alto peso molecular con regiones en las que se intercalan los  $\beta$  (1-4)-mananos y los  $\beta$  (1-4)-glucano.

**Xilanos:** Poseen una cadena principal de residuos de xilosilo unidos por enlaces  $\beta$  (1-4) sustituidos con residuos de ácido  $\alpha$ -D-glucourónico y  $\alpha$ -D-arabinosa.

**Pectinas:** También se trata de un grupo heterogéneo de polisacáridos que presentan como característica común ser ricos en ácido  $\alpha$ -D-galacturónico (GalA). Las pectinas pueden ser tanto lineales como ramificadas. Las más abundantes son los homogalacturonanos consistentes en una cadena lineal de residuos de ácido galacturónico, unidos por enlaces  $\alpha$ -1,4 (**Kumar y col., 2016**). Contienen hasta 200 unidades de ácido galacturónico. Los grupos carboxilos de estos residuos pueden encontrarse en forma libre o bien esterificada con metanol. El grado de esterificación posee implicancias en la carga neta de la molécula afectando su posibilidad de interactuar iónicamente formando puentes de calcio (**Höfte y Voxeur, 2017**). Asimismo, afecta la susceptibilidad al ataque por enzimas hidrolíticas. Otro constituyente péctico importante es el ramnogalacturonano I (RG I) (**Wachananawat y col., 2020**). Presenta una cadena principal de ramnosa y ácido galacturónico intercalados. Los residuos de ramnosa suelen presentar largas ramificaciones de azúcares neutros, principalmente galactosa y arabinosa (**Zhao y col., 2020**). Finalmente, existe un tercer grupo de polímeros pécticos menos abundante y más complejo estructuralmente: El RG II presenta una cadena principal de ácido galacturónico y grandes ramificaciones formadas por azúcares como la galactosa, apiosa, ácido acérico, ácidos octulosónico y heptulosárico. (**Ropartz y Ralet 2020**). El RG II posee la capacidad de formar dímeros a través de puentes borato diol (**O'Neill y col., 2020; Zhao y col., 2020**). Las pectinas poseen influencia en la adhesión y porosidad de la pared y sus cargas modulan el equilibrio iónico (**Gigli-Bisceglia y col., 2020**).

Asimismo, ciertos oligosacáridos derivados de su degradación cumplen funciones como moléculas de señalización y alertan a las células de la planta de la presencia de organismos patógenos.

### **III.1.2. Degradación de pared celular y ablandamiento durante la maduración: Un proceso de desorganización organizado.**

El proceso de ablandamiento de frutos por su degradación de paredes celulares se atribuye a la actividad de numerosos enzimas. A continuación, se describen sus características más salientes.

**Poligalacturonasa (PG)**: Son los enzimas de ablandamiento más estudiados. Hidrolizan la cadena principal del homogalacturonano (HG). Dependiendo de su modo de acción se pueden distinguir endo- y exo- poligalacturonas. Las endo-PGs hidrolizan las pectinas en sitios internos y por tanto son la que más impacto poseen en la integridad del polímero. Los exo-PGs remueven residuos individuales de GalA desde su extremo no reductor. La supresión de PG fue el primer carácter transformado a partir de plantas de tomate genéticamente modificadas. El hecho que los frutos no mostraron grandes variaciones en su textura respecto al control sugirió que no prestaban un rol tan importante en el ablandamiento como se había creído con anterioridad. De todos modos, estudios recientes con técnicas más eficaces como el ARNi han mostrado que PG presentaría importancia en el control del ablandamiento en diferentes frutos. Algunas frutas, como tomate, palta y durazno, muestran una alta actividad de PG (**Hadfield y Bennett, 1998**). Por el contrario, otras frutas (melón, manzana y frutilla) muestran una actividad PG muy baja (**Posé y col., 2011**). En frutilla, se han descrito dos genes de poligalacturonasas diferentes que codifican PG funcionales FaPG1 y FaPG2 (**Sánchez-Sevilla y col., 2017; Candelas y col., 2020**).

**$\alpha$ -D-Xilosidasas ( $\alpha$ -xil)**: Son *exo*-enzimas que hidrolizan enlaces terminales  $\beta$ -1,4 entre residuos adyacentes de D-xilosa, está presente en las hemicelulosas y pectinas de la pared celular, su actividad en frutilla ha sido descrita por (**Rosli y Martínez., 2004**).

**1,4-β-D-glucanasas:** Hidrolizan las cadenas de 1,4-β-D-glucano. En tal sentido, sus potenciales sustratos en la pared celular serían la celulosa y otros glucanos como el xiloglucano. Con respecto a la celulosa las regiones cristalinas de sus microfibrillas se han considerado inaccesibles para estas enzimas, aunque las zonas menos organizadas estructuralmente podrían ser clivadas. Se considera que el principal sustrato *in vivo* de estas enzimas es la cadena principal del xiloglucano. Del mismo modo que se mencionó para PG existen 1,4-β-D-glucanasas con actividad *endo* y *exo* (Vicente y col., 2007).

**α-L-arabinofuranosidasas (α -ara):** Son enzimas con capacidad de remover la arabinosa de las cadenas laterales de pectinas ramificadas como el RG I (Sozzi y col., 2004). En el caso de la frutilla, se obtuvieron tres ADNc de arabinofuranosidasa y la expresión de los genes de la AFase. Se ha sugerido su participación en el desembalaje de pectina (Rosli y col., 2004; Villareal y col., 2008).

**β-D-Galactosidasas (β -gal):** Son exo-hidrolasas que catalizan específicamente la hidrólisis de los residuos de enlaces β-D-galactosídicos. Es la única enzima identificada en plantas superiores con la capacidad de romper directamente residuos terminales de (1-4)-β-D-galactano. Se consideran enzimas responsables de la remoción de galactosa terminal de cadenas laterales de pectinas del tipo RG I. La pérdida de estos azúcares es uno de los cambios más grandes que se observa en muchos frutos al inicio del proceso de ablandamiento (Smith y col., 2002).

**Pectinmetilesterasas (PMEs):** Catalizan la hidrólisis de los ésteres metílicos de pectina (C-6), por lo que disminuyen su grado de esterificación. De este modo, posee varios efectos en la bioquímica de las pectinas. Su acción permite la formación de puentes de calcio (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Wu y col., 2018). El espaciado de las uniones se postula como un factor central en la regulación del tamaño de poros en la pared. Asimismo, la reducción en el grado de esterificación facilita la posterior acción hidrolítica de poligalacturonasa.

### **III.1.3. Efecto de tratamientos UV-C en el metabolismo de pared de los frutos**

Dada la importancia que el proceso de ablandamiento posee en la capacidad de conservación de frutos y particularmente en los *berries*, no resulta raro comprender que haya sido uno de los procesos más estudiados. Numerosos estudios han demostrado que la irradiación UV-C puede causar un cierto retraso en la pérdida de firmeza. Si bien el estudio inicial realizado por **Baka y col. (1999)** mostró que las dosis de UV-C de  $0,25 \text{ kJ m}^{-2}$  fue más efectiva que  $1,00 \text{ kJ m}^{-2}$ , posteriores evaluaciones por **Nigro y col. (2000)** informaron resultados opuestos. Parte de estas divergencias pueden comprenderse ahora a la luz de los resultados presentados en el **Capítulo I** donde se observó que la intensidad de radiación es un factor fundamental en la eficacia de los tratamientos es más allá de la dosis. **Villarreal y col. (2008)** informaron que la aplicación de tratamientos UV en frutilla antes de la refrigeración afecta el patrón de expresión de genes que codifican para enzimas de degradación de pared celular. Contrariamente, no existen estudios que hayan evaluado el impacto de tratamientos UV-C aplicados en forma repetida y fraccionada a lo largo del almacenamiento de los frutos en polisacáridos ni enzimas de pared. Algo similar ocurre en relación a los componentes de pared celular. En el presente capítulo se estudió el efecto de los tratamientos UV-C repetidos en baja dosis durante el almacenamiento en la composición y actividad de enzimas de degradación de pared células con el fin de comprender su relación con el control marcado del ablandamiento hallado como consecuencia de este patrón de exposición (**Capítulo II**).

### **III.2. OBJETIVO**

- *Determinar el impacto de tratamientos UV-C distribuidos a lo largo del periodo poscosecha, en la composición de pared celular y actividad de enzimas asociados con su degradación.*

### **III.3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **III.3.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento**

Se cosechó frutilla cv. Camarosa con 100% de color rojo superficial y se llevó inmediatamente al laboratorio. La fruta se seleccionó adicionalmente por su tamaño ( $3 \pm 0,3$  cm de diámetro del hombro) y se eliminaron aquellos frutos que tenían defectos y se colocaron en bandejas de polietileno tereftalato (PET), en grupos de diez frutos. Las bandejas se irradiaron en un banco de UV-C (intensidad de radiación de  $36 \text{ W m}^{-2}$ ) como se describió en el **Capítulo I**. Se aplicaron los siguientes tratamientos:

**Control:** no expuesto a la luz UV-C.

**UV-C simple:**  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  aplicación de UV-C antes del almacenamiento;

**UV-C dos pasos:** dos aplicaciones de UV-C de  $2 \text{ kJ m}^{-2}$  después de 0 y 4 días de almacenamiento;

**UV-C múltiples pasos:** cinco aplicaciones de UV-C de  $0,8 \text{ kJ m}^{-2}$  después de 0, 2, 4, 6 y 8 días de almacenamiento.

La dosis e intensidad de radiación se determinaron con un radiómetro UV-C. Finalizado los tratamientos, las muestras se cubrieron con una tapa de plástico perforada y se almacenaron 0, 10 o 13 días a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  en oscuridad. Se utilizaron cuatro bandejas que contenían 10 frutos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Luego del período de almacenamiento, los frutos se cortaron transversalmente al eje principal en la zona ecuatorial para obtener dos discos consecutivos de 4 mm de espesor. Se utilizó un disco para evaluar las propiedades texturales de los frutos. El segundo disco de cada fruto se cortó con un bisturí para obtener anillos de los 3 mm exteriores del receptáculo. Los tejidos con aquenios se utilizaron para determinar la composición de polisacáridos estructurales y la actividad de enzimas de degradación de pared celular. Las muestras para la realización de los estudios bioquímicos se congelaron en  $\text{N}_2$  líquido y se almacenaron a  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta su análisis.

Dado que se acepta que la radiación UV-C posee poca capacidad de penetración se realizó el estudio focalizando en la zona externa del receptáculo atendiendo a que los cambios que aquí ocurren podrían ser relevantes en la interacción con patógenos responsable de

podredumbres y que el análisis de todo el receptáculo podría enmascarar los cambios superficiales.

### **III.3.2. Determinaciones analíticas**

#### ***III.3.2.1. Propiedades mecánicas***

Para evaluar la textura de los frutos se utilizó un disco (4 mm de espesor) de la región ecuatorial del fruto obtenido como se indicó en la sección 3.1. Las propiedades mecánicas de la fruta se evaluaron en la sección exterior del receptáculo en discos enteros. Los discos de fruta se comprimieron en dirección paralela al eje principal de la fruta en un analizador de textura Texture Analyzer equipado con una sonda plana de 3 mm a una velocidad de avance de 1 mm por segundo. Se determinó la pendiente inicial (resistencia a la compresión, RC), la fuerza máxima desarrollada durante la prueba (dureza) y la distancia recorrida por la sonda hasta la falla mecánica del tejido (DF). Se realizaron tres mediciones por disco en puntos equidistantes y se promediaron. Se analizaron cuarenta discos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***III.3.2.2. Residuo insoluble en alcohol (RIA)***

Se pesaron 30 g de frutos congelados y se trituraron en un dispersor de alta velocidad (IKA, Ultraturrax T25, Brasil) con 100 mL de etanol 96 % (v/v). La suspensión resultante se calentó a ebullición en una platina por 30 min para asegurar la inactivación de enzimas y prevenir la autólisis de polisacáridos de pared celular. El material insoluble se filtró a través de Miracloth (Calbiochem, EMD Biosciences Inc. Estados Unidos) y se lavó con 100 mL de etanol, 100 mL de etanol/cloroformo (1:1 v/v) y 100 mL de acetona. El residuo obtenido (RIA) se secó a 37 °C y se pesó. Se realizaron tres extracciones independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Los resultados se expresaron como gramos de RIA por cada 100 g de fruto fresco.

#### ***III.3.2.3. Fraccionamiento de la pared celular***

Se obtuvieron fracciones de diferentes componentes de pared celular mediante extracciones seriadas del material de la pared celular (RIA) con distintos solventes según

**Vicente y col., 2007.** Para ello, se suspendieron aproximadamente 40 mg de RIA en 10 mL de agua destilada y se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a  $13.000 \times g$  a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 min y el sobrenadante se filtró a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C). El residuo se lavó con agua destilada y el filtrado se llamó pectinas solubles en agua (**PSA**). El sólido fue re-extraído con 10 mL de CDTA  $50\text{ mmol L}^{-1}$  (como se hizo para la fracción de PSA) y se obtuvieron las pectinas solubles en CDTA (**PSC**) en el filtrado. Seguidamente, se extrajo el residuo sólido con 10 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $100\text{ mmol L}^{-1}$  se agitó 1 h a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se centrifugó, se filtró por vacío y el filtrado se llevó a 15 mL con agua destilada como se hizo previamente para obtener las pectinas solubles en carbonato de sodio (**PSN**). El pellet se re-extrajo durante 1 h a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  con 10 mL  $\text{KOH}$   $1\text{ mol L}^{-1}$  para obtener así la fracción soluble en  $\text{KOH}$   $1\text{ mol L}^{-1}$  (**FSK1**) y luego de la centrifugación se re-extrajo el pellet con  $\text{KOH}$   $4\text{ mol L}^{-1}$  para obtener la fracción soluble en  $\text{KOH}$   $4\text{ mol L}^{-1}$  (**FSK4**). Se analizaron dos muestras para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento y cada muestra fue extraída por triplicado.

#### **III.3.2.4. Ácidos urónicos (AU)**

Se analizaron según el método de **Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973)**. Alícuotas de 100  $\mu\text{L}$  de diferentes fracciones de pared celular se adicionaron a tubos de ensayo y se llevó a 200  $\mu\text{L}$  con agua destilada. Los tubos se colocaron en un baño de agua-hielo y a cada uno se le adicionó 1 mL de borato de sodio  $7,5\text{ mmol L}^{-1}$  (preparado en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  98% p/p). Las muestras se agitaron con vortex y se incubaron a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 min. Posteriormente, los tubos se enfriaron en un baño de agua-hielo y a cada uno se le adicionaron 20  $\mu\text{L}$  de *m*-fenilfenol (preparado en  $\text{NaOH}$  0,5% p/v). Luego de agitar los tubos se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro. Se realizó una curva de calibración con ácido galacturónico ( $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Se analizaron dos muestras independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento, y las medidas se realizaron por triplicado.

#### **III.3.2.5. Azúcares neutros (AN)**

La determinación se realizó empleando 2-cianoacetamida de acuerdo a **Gross y Sams (1984)**. Se determinó la absorbancia a 276 nm y se calculó el nivel de azúcares totales empleando una curva de calibración con glucosa ( $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Se analizaron 2 muestras

independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento y las medidas se realizaron por triplicado.

#### **III.3.2.6. Ramificación de pectinas**

La ramificación de pectinas se estimó calculando la proporción de azúcares totales a ácidos urónicos en la fracción PSC. Las mediciones se realizaron por triplicado.

#### **III.3.2.7. Preparación de extractos enzimáticos**

Aproximadamente 5 g de fruto se molieron en un Utraturax con 10 mL de buffer de extracción (ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5; NaCl 1 M; PVPP 10 g<sup>-1</sup>). La suspensión obtenida se agitó por 4 h a 4 °C y luego se centrifugó a 10.000 × g por 10 min. El sobrenadante se dializó por 12 h en buffer ácido acético/acetato de 30 mM pH 5,5 en constante agitación. El extracto obtenido se utilizó para la determinación de las actividades enzimáticas. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### **III.3.2.8. Poligalacturonasa (PG, EC 3.2.1.15)**

La actividad se midió en mezclas de reacción que contenían 400 µL de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5, 400 µL ácido poligalacturónico 0,15% p/v y 600 µL de extracto enzimático. La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200 µL a diferentes tiempos hasta completar 36 h, para frenar la reacción se añadió 1 ml de borato de sodio 1 M. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### **III.3.2.9. α-D-xilosidasa (α-xil EC 3.2.1.37)**

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400 µL de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5 600 µL de extracto enzimático y 400 µL de *p*-nitrofenil-α-D-xilopiranosido 10 mM (Sigma, SL, Estados Unidos). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200 µL a diferentes tiempos hasta completar 24 h, para cortar la reacción se añadió 600 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M y se midió la absorbancia a 400

nm para determinar la velocidad de reacción lineal enzima-sustrato. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### ***III.3.2.10. Endo- $\beta$ -1,4-glucanasa (EGasa, EC 3.2.1.4)***

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400  $\mu$ L de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5 600  $\mu$ L de extracto enzimático y 400  $\mu$ L de carboximetilcelulosa (CMC) al 0,2% (p/v). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L a diferentes tiempos hasta completar 36 h, para detener la reacción se añadió 1 ml de borato de sodio 1 M. Los azúcares reductores liberados se midieron con 2-cianoacetamida de acuerdo a **Gross y Sams (1984)**. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### ***III.3.2.11 $\alpha$ -L-arabinofuranosidasa ( $\alpha$ -L-ara, EC 3.2.1.55)***

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400  $\mu$ L de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5 600  $\mu$ L de extracto enzimático y 400  $\mu$ L de para nitrofenil- $\alpha$ -L-arabinofuranósido 10 mM (Sigma, SL, Estados Unidos). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L a diferentes tiempos hasta completar 38 h, para detener la reacción se añadió 600  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M y se midió la absorbancia a 400 nm para determinar la velocidad de reacción lineal enzima-sustrato. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### **III.3.2.12. $\beta$ -D-galactosidasa ( $\beta$ -gal, EC 3.2.1.23)**

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400  $\mu$ L de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5, 600  $\mu$ l de extracto enzimático y 400  $\mu$ L de *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido 10 mM (Sigma, SL, Estados Unidos). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L a diferentes tiempos hasta completar 6 h, para frenar la reacción se añadió 600  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M y se midió la absorbancia a 400 nm para determinar la velocidad de reacción lineal enzima-sustrato. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### **III.3.2.13. $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -glc, EC 3.2.1.21)**

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400  $\mu$ L de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5, 600  $\mu$ l de extracto enzimático y 400  $\mu$ l de *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido 10 mM (Sigma, SL, Estados Unidos). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L a diferentes tiempos hasta completar 6 h, para cortar la reacción se añadió 600  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M y se midió la absorbancia a 400 nm para determinar la velocidad de reacción lineal enzima-sustrato. Se prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### **III.3.2.14. $\alpha$ -galactosidasa ( $\alpha$ -gal EC, 3.2.1.22)**

La actividad se midió en una mezcla que contenía 400  $\mu$ L de buffer ácido acético/acetato de sodio 50 mM pH 5,5, 600  $\mu$ l de extracto enzimático y 400  $\mu$ l de *p*-nitrofenol- $\alpha$ -D-galactopiranosido 10 mM (Sigma, SL, Estados Unidos). La mezcla de reacción se incubó a 40 °C y se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L a diferentes tiempos hasta completar 6 h, para cortar la reacción se añadió 600  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M y se midió la absorbancia a 400 nm para determinar la velocidad de reacción lineal enzima-sustrato. Se

prepararon tres extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

#### ***III.3.2.15. Extracción y determinación de actividad pectilmetilesterasa (PME, EC 3.1.1.11)***

Aproximadamente 5 g de fruto se molieron en un Utraturrax con 10 mL de NaCl 1M conteniendo 10 g L<sup>-1</sup> de polivinilpolipirrolidona y 10 mM cisteína. La suspensión obtenida se agitó por 4 h a 4 °C y luego se centrifugó a 10.000 × g por 20 min. El sobrenadante se usó para medir la actividad enzimática. La mezcla contenía 600 µL de pectina 0,15% p/v (grado de esterificación 70%), 150 µL de azul de bromotimol 0,01% en 0.003 M de buffer fosfato pH: 7,5, 100 µL de agua destilada y 200 µL de extracto enzimático. Se tomaron alícuotas de 200 µL durante 30 minutos, y se midió la reducción de la densidad óptica a 620 nm a 37 °C. Una unidad enzimática (UAE) se definió como la variación de absorbancia de 0,01 en un minuto. Los resultados se expresaron en UAE por kilogramo de peso fresco.

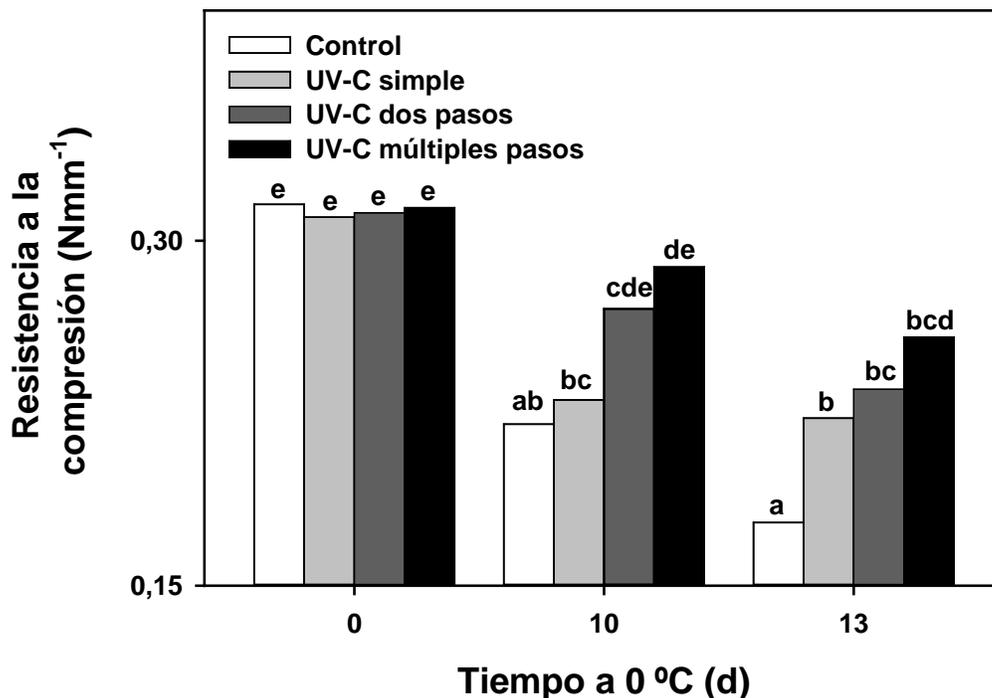
#### **III.3.3. Análisis estadístico**

Los supuestos del modelo de homogeneidad de varianza y normalidad se probaron mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. En el caso de ser necesario se realizaron las transformaciones respectivas de las variables. Las muestras se analizaron mediante un ANOVA con el software INFOSAT. Las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de rango studentizado de Fisher (P< 0,05).

### III.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.4.1. Propiedades mecánicas de los frutos

Inmediatamente después de la irradiación, no se observaron diferencias entre los tratamientos en ninguna de las propiedades mecánicas evaluadas (**Figura III.1** y **Tabla III.1**). Tanto la resistencia a la compresión como la dureza y la distancia a la falla mecánica mostraron un descenso durante el almacenamiento. La resistencia a la compresión de la fruta fue el parámetro que mostró la mayor reducción en el tratamiento control durante el almacenamiento (~ 65% a los 13 días respecto al nivel al momento de cosecha) (**Figura III.2**). La dureza de los frutos mostró una tendencia similar (**Tabla III.1**). Para este atributo, a los 10 días de refrigeración no se encontraron diferencias entre fruto control o tratados en forma convencional con radiación UV-C. Contrariamente, los frutos sometidos al tratamiento UV en múltiples pasos conservaron niveles significativamente superiores. Al final del almacenamiento los frutos control presentaron los niveles más bajos de resistencia a la compresión.



*Figura III.2. Resistencia a la compresión de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

Luego de 13 días de refrigeración se observó una mayor dureza en las frutillas sometidas al tratamiento convencional antes del almacenamiento respecto a los controles y un efecto aún más marcado para los frutos tratados con UV-C en dos o múltiples pasos. Este retraso en el ablandamiento fue muy marcado, a punto tal que los frutos sometidos a los tratamientos fraccionados no evidenciaron en todo el periodo de almacenamiento una disminución significativa en la dureza respecto a los valores al inicio de la refrigeración.

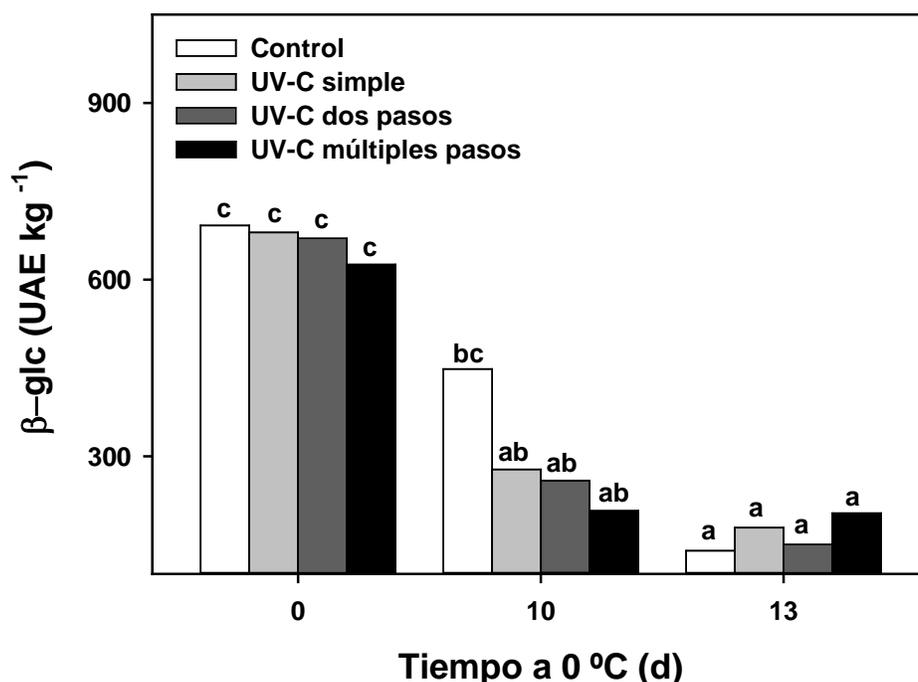
**Tabla III. 1. Dureza y distancia a la ruptura en frutilla control o tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento de la irradiación (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.**

Tratamiento		Tiempo a 0° (d)		
		0	10	13
<b>Dureza (N)</b>	Control	0,456d	0,371bc	0,295a
	UV-C simple	0,446d	0,376bc	0,356b
	UV-C dos pasos	0,447d	0,411cd	0,414cd
	UV-C múltiples pasos	0,455d	0,413cd	0,424 d
<b>Distancia de ruptura (mm)</b>	Control	1,320c	1,283b	1,245a
	UV-C simple	1,319c	1,287b	1,241a
	UV-C dos pasos	1,321c	1,295bc	1,287b
	UV-C múltiples pasos	1,320c	1,297bc	1,277b

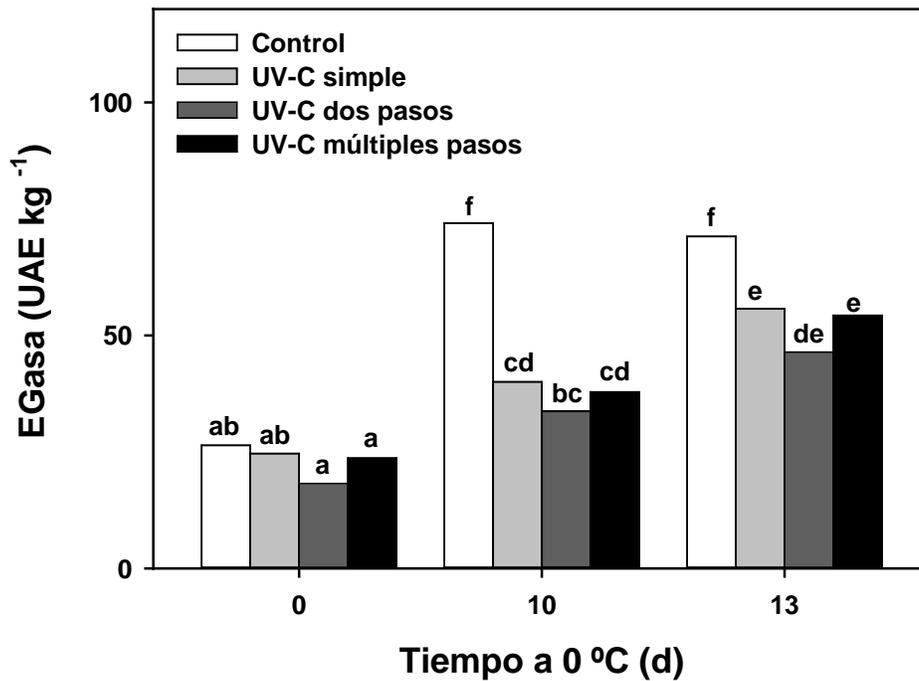
Finalmente, la distancia a la ruptura de los frutos irradiados con UV-C en forma fraccionada fue mayor al final del periodo de refrigeración que en los frutos control o tratados con UV-C en forma convencional (UV-C simple). Dado que el ablandamiento de los frutos que acompaña a la maduración se ha relacionado en buena medida con el desensamblaje de la pared celular (Brummell, 2006; Saladié y col., 2007; Paniagua y col., 2014) de decidió analizar los cambios inducidos en los tratamientos tanto en los componentes como en los enzimas asociadas a este proceso.

### III.4.2. Actividad de enzimas involucrados en la degradación de hemicelulosa

Inicialmente se analizó la actividad de  $\beta$ -glucosidasa y endo-1,4- $\beta$ -glucanasas, enzimas involucrados en la degradación de hemicelulosa, particularmente cadenas principales de xiloglucano, polímero hemicelulósico más abundante en la pared celular de las frutillas. Los enzimas mostraron patrones de actividad opuestos con el almacenamiento. La  $\beta$ -glc aumentó (**Figura III.3**) mientras que EGasa disminuyó (**Figura III.4**), pero ambas fueron inhibidos significativamente por los tratamientos con UV-C. Después de 10 días a 0 °C, las frutillas tratadas con UV-C mostraron menores actividades de  $\beta$ -glc y EGasa que el control, independientemente del modo de exposición a la radiación UV-C. En la última fecha de muestreo, las diferencias entre el control y los frutos irradiados con UV-C todavía fueron detectables para  $\beta$ -glc, pero no para EGasa. A diferencia de lo que se encontró para las propiedades mecánicas de la fruta, estos enzimas mostraron una actividad similar en la fruta que recibió los diferentes tratamientos UV-C.



**Figura III. 3.** Actividad  $\beta$ -glucosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.



*Figura III.4. Actividad endo-1,4-β-glucanasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

Los residuos de xilosa son los más abundantes en las cadenas laterales de xiloglucano (Carpita y Gibeaut, 1993). Por ello se evaluó la actividad de la α-xilosidasa a fin de establecer si existían diferencias en los niveles de este enzima en función del patrón de irradiación UV-C. Al igual que la β-glucanasa la actividad de la α-xilosidasa aumentó con el tiempo de almacenamiento y fue inhibida por los tratamientos (Figura III.5). En este caso al final del periodo de refrigeración se halló una mayor inhibición en la frutilla sometida a tratamientos UV-C en múltiples pasos. La radiación ultravioleta puede tener efectos inhibidores sobre las proteínas por diferentes mecanismos. Los aminoácidos aromáticos pueden absorber la luz ultravioleta y esto puede desencadenar la expulsión de electrones de sus cadenas laterales. A su vez, los electrones pueden ser capturados por puentes disulfuro, lo que lleva a la formación de grupos tiol libres, afectando la actividad catalítica en ciertos casos (Neves-Petersen y col., 2012). Otro mecanismo posible de cambios inducidos por los rayos UV en las proteínas está mediado por especies reactivas del oxígeno, cuya producción

se sabe que se exagera en respuesta a la luz ultravioleta, y que puede oxidar tanto residuos de aminoácidos relevantes para la actividad catalítica como a cofactores enzimáticos (Schieber y Chandel, 2014). Finalmente, la radiación ultravioleta también podría modular la actividad enzimática por cambios “aguas arriba” al reducir el nivel de transcripción de los genes correspondientes (Shen y col., 2016). Pombo y col. (2009) mostraron que tratamientos con UV-C similares a los aplicados aquí modulaban la transcripción de genes relacionados con la maduración de la frutilla. El hecho de que los cambios en la actividad enzimática encontrados en el presente trabajo no se observaron inmediatamente después de los tratamientos, sino más bien durante el almacenamiento, apoya al menos indirectamente en mayor medida la posibilidad de que los efectos se deban a cambios transcripcionales más que a alteraciones directas en las estructuras proteicas que debieran haberse detectado ya al inicio. Sin embargo, esto debería estudiarse con más detalle.

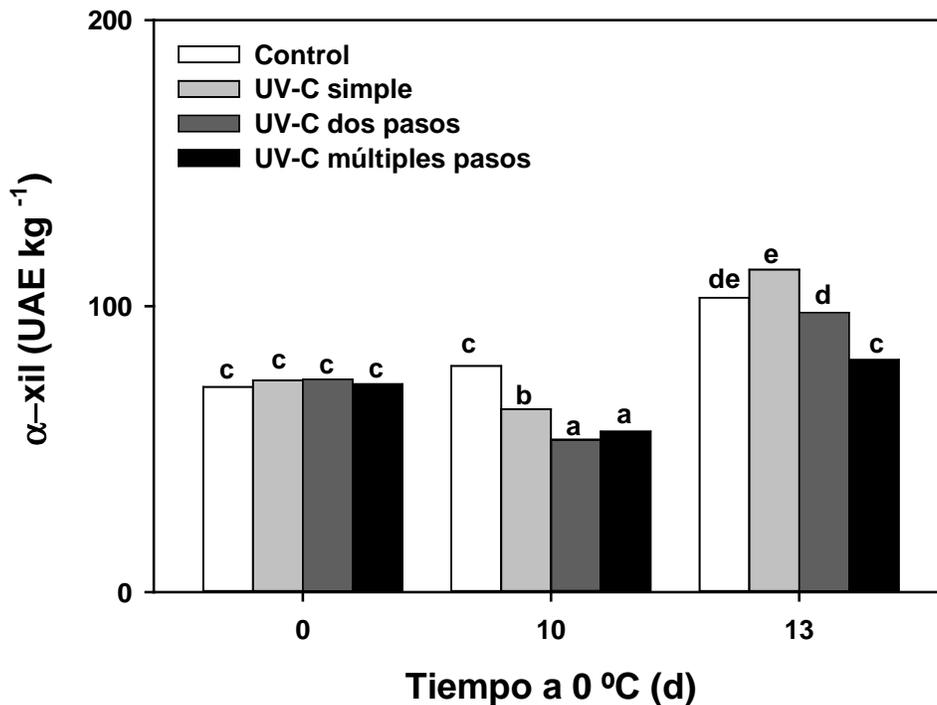


Figura III. 5. Actividad  $\alpha$ -xilosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### III.4.3. Actividad de enzimas involucrados en la degradación de pectina

En la última década ha habido evidencia concluyente que muestra que la ruptura de las paredes celulares en *berries* involucra mayormente cambios en pectina y no tanto en hemicelulosas y celulosa (Paniagua y col., 2014; Paniagua y col., 2020). Varios trabajos empleando estrategias biotecnológicas para inhibir la actividad de genes que codifican para pectinasas de frutilla muestran retrasos significativos en el ablandamiento (Molina-Hidalgo y col., 2013; Paniagua y col., 2016; Posé y col., 2016; Posé y col., 2018). En el presente trabajo el aumento en la actividad PG que acompaña a la maduración de los frutos fue fuertemente inhibido por los tratamientos UV-C. Así, la actividad PG se incrementó tres veces luego de 13 días en el control, y solo el 50% en los frutos sometidos a tratamientos con UV-C (Figura III.6). En este caso, y de manera similar a los resultados encontrados para la  $\beta$ -glc y EGasa, los tres esquemas de tratamiento de irradiación con UV-C causaron una inhibición comparable de PG.

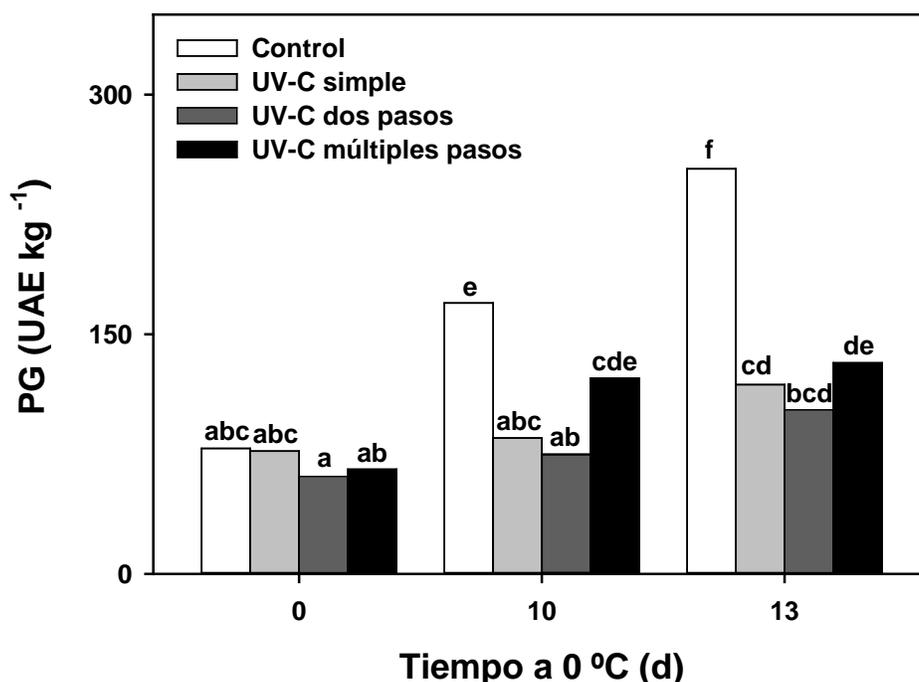
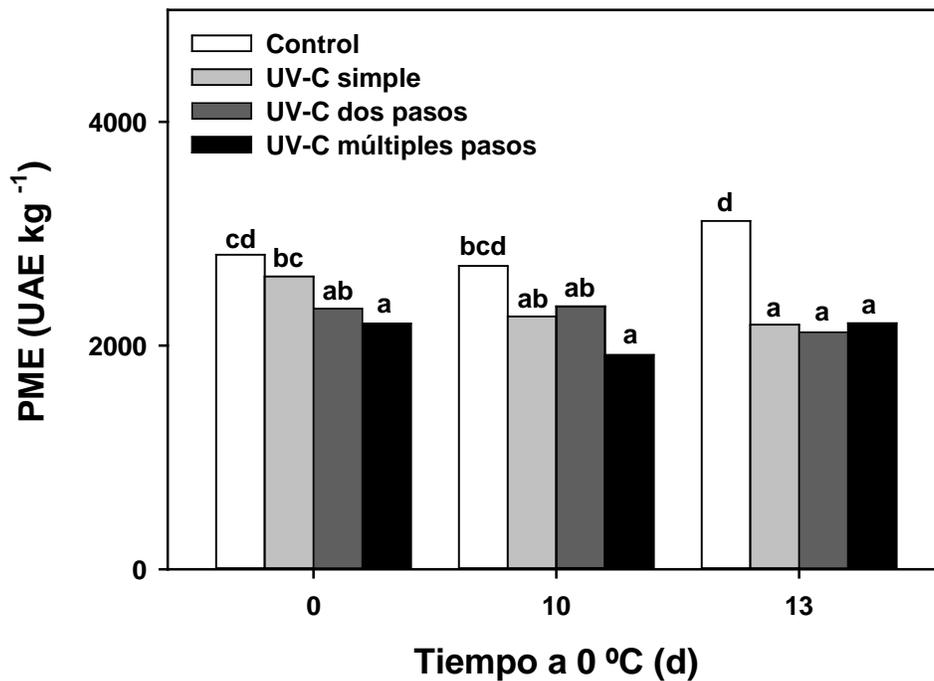


Figura III.6. Actividad poligalacturonasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2x2 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

La actividad de PME no mostró cambios en el control durante el almacenamiento (**Figura III.7**). Este resultado coincide con trabajos previos que informan que la actividad de PME alcanza su punto máximo en las frutillas en estado verde (**Draye y Van Cutsem, 2008**). Al igual que la PG, la exposición a UV-C inhibió a PME hacia el final del almacenamiento en forma marcada, pero con un efecto similar en respuesta a todos los tratamientos UV-C ensayados (**Figura III.7**). El papel de la PME en la retención de firmeza no se comprende aun por completo, por un lado, desesterificación de pectinas puede facilitar la formación de puentes de calcio de pectina que refuerzan la pared, aunque también genera poligalacturonanos que resultan ser mejores sustratos para la acción de PGs y los pectatoliasas que sus equivalentes esterificados (**Brummell, 2006**).



**Figura III. 7.** Actividad pectilmetilesterasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

La pérdida de azúcares neutros como la arabinosa y galactosa presentes en las cadenas laterales o ramificaciones de las pectinas es otro de los cambios importantes que acompaña el ablandamiento de frutos (Gross y Sams, 1984; Carpita y McCann, 2015). Por ello se evaluó la actividad de los enzimas responsables de este proceso:  $\alpha$ -arabinofuranosidasa ( $\alpha$ -ara) y  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -gal). La actividad  $\alpha$ -ara mostró una tendencia creciente a lo largo del almacenamiento (Figura III.8). Esto está en línea con trabajos anteriores que muestran un aumento en la expresión durante la maduración de la frutilla (Rosli y col., 2009).

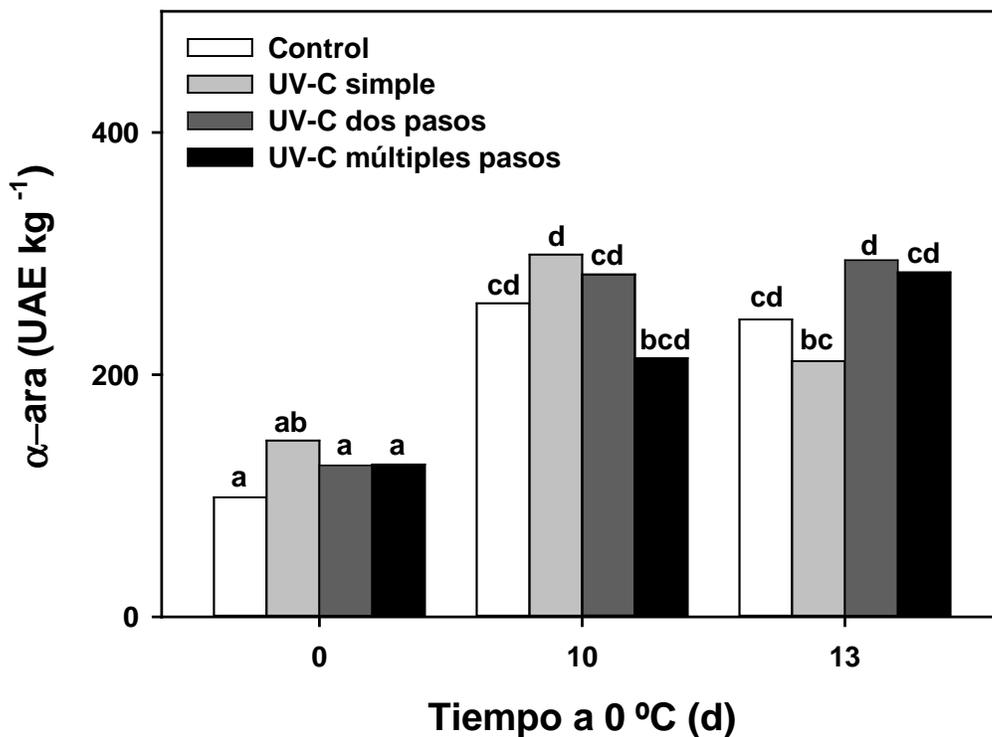
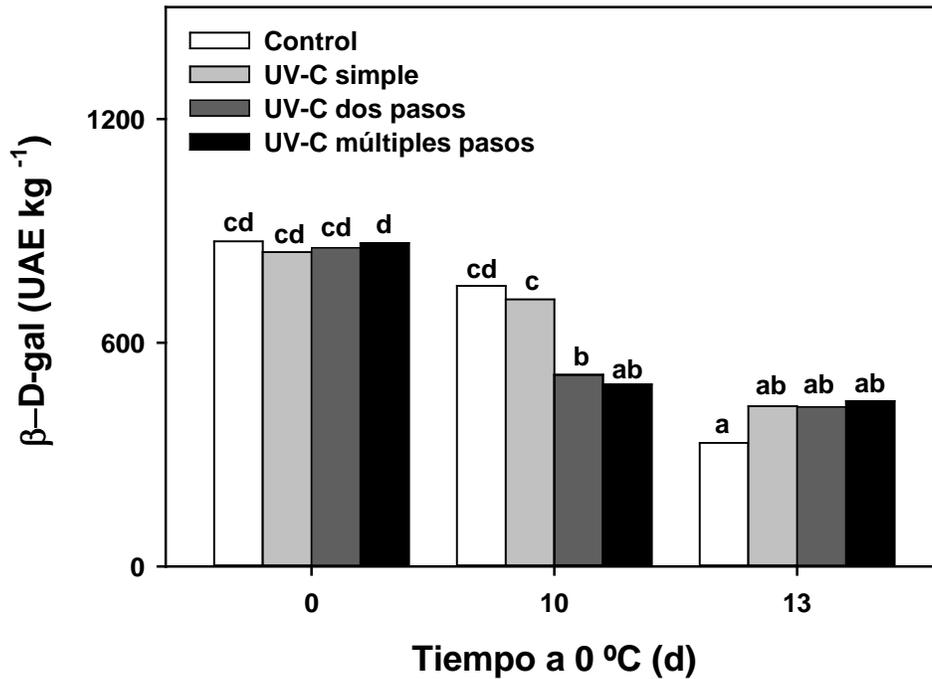


Figura III.8. Actividad  $\alpha$ -arabinosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

En este caso, los tratamientos con UV-C no inhibieron esta enzima (Figura III.8). Con respecto a  $\beta$ -gal si bien no se observaron diferencias entre tratamientos antes del almacenamiento se detectó una significativa inhibición a los 10 días en los frutos tratados con UV en forma repetida (Figura III.9). Pombo y col. (2009), al analizar la influencia de

la irradiación UV-C aplicada inmediatamente después de la cosecha sobre la expresión de genes implicados en la degradación de la pared celular, encontraron, en muchos casos, una menor acumulación de los correspondientes ARNm en breves intervalos de tiempo tras el tratamiento de irradiación. Sin embargo, este efecto fue transitorio, y se encontraron niveles de expresión normales o incluso más altos que en los controles luego de un periodo de recuperación. En este escenario, si la exposición a la radiación UV-C a dosis baja es suficiente para reprimir la transcripción de estos genes, la aplicación repetida podría ejercer un efecto más prolongado y un consiguiente beneficio en la integridad de la pared celular. Después de 13 días de almacenamiento, y cuando finalizó la irradiación UV-C, se encontraron niveles similares de actividad  $\beta$ -gal en todos los tratamientos (**Figura III.9**). Los resultados muestran que los tratamientos UV-C fraccionados afectaron en forma más marcada a la actividad  $\beta$ -gal que los convencionales y esto podría en cierto modo tener influencia en la remoción de cadenas laterales de pectinas de tipo RG I. Sin embargo, se necesita más trabajo para comprender de modo completo el impacto de la radiación ultravioleta en los enzimas de degradación de pared. Así resultaría relevante analizar el impacto en pectato y ramnogalacturonano liasas que se ha demostrado que contribuyen al ablandamiento de frutilla (**Quesada y col., 2009; Molina-Hidalgo y col., 2013; Posé y col., 2016**).

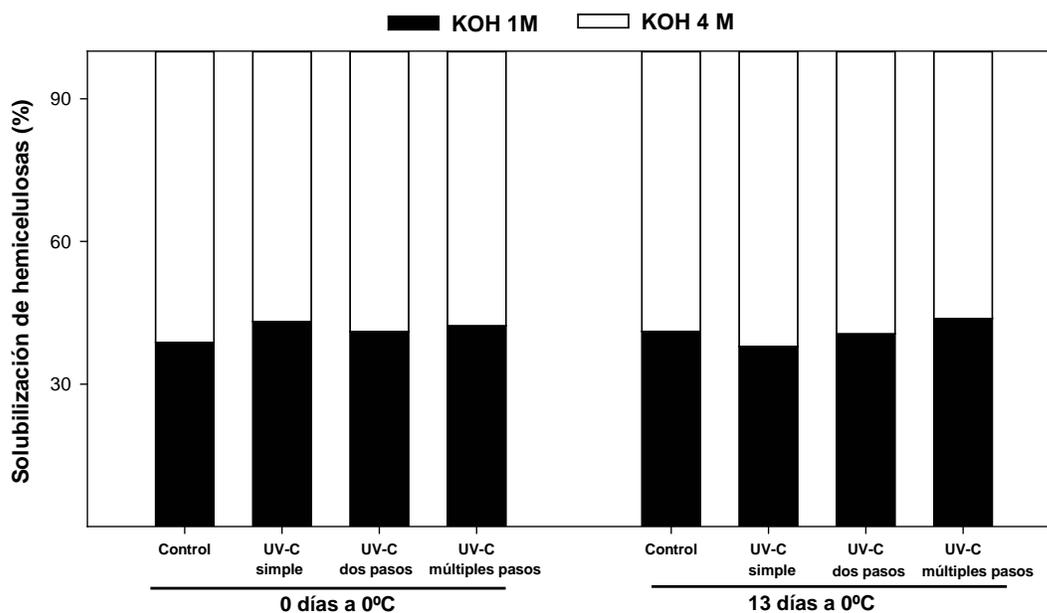


*Figura III.9. Actividad  $\beta$ -galactosidasa de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

#### **III.4.4. Solubilización de hemicelulosas**

Las hemicelulosas se extrajeron en dos fracciones diferentes en función de su solubilidad en KOH. Frecuentemente la primera extraíble con KOH 1 M suele enriquecerse con glucanos no ramificados, mananos o galacto-gluco-mananos (Brummell, 2006), mientras que concentraciones más elevadas de álcali ( $\sim 4 \text{ M}$ ) son necesarias comúnmente para extraer al xiloglucano. De todos modos, conforme progresa la maduración las fracciones más fuertemente asociadas a la pared pueden hacerse más solubles en la medida que los polímeros son hidrolizados por los diferentes enzimas. Las hemicelulosas solubles en KOH 1 M representaron entre un 20 y un 35% del total de hemicelulosas antes del almacenamiento (Figura III.10). Luego de 13 días de refrigeración y a pesar del marcado deterioro en la textura de los frutos no se observaron cambios marcados en la solubilidad de hemicelulosa. Todos los tratamientos al final de la refrigeración mantuvieron una distribución similar en términos de la solubilidad de la hemicelulosa. Esto sugiere que los cambios determinados *in*

*in vitro* en alguna de los enzimas responsables no se tradujeron en cambios evidentes al menos mediante esta forma de evaluación. Si bien no puede descontarse que hayan ocurrido otros cambios como consecuencia de los tratamientos UV-C en las hemicelulosas al menos estos ocasionaron una modificación significativa en su solubilidad relativa.



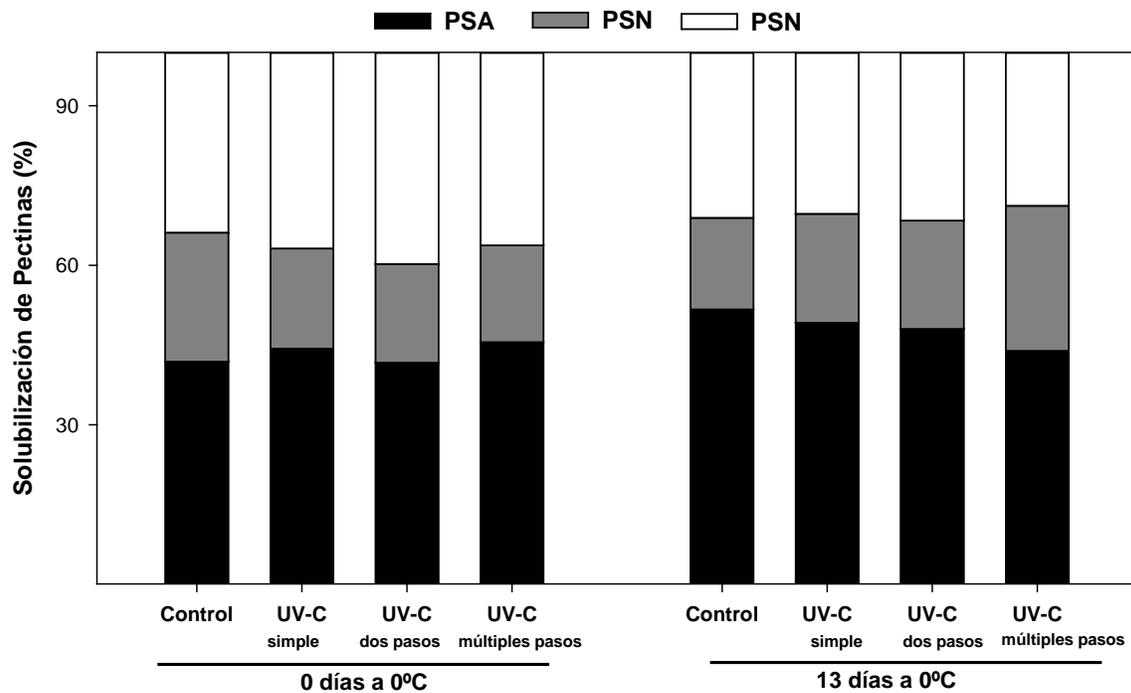
**Figura III.10.** Solubilización de hemicelulosas de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple,  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C múltiples pasos,  $5 \times 0,8 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

#### **III.4.5. Solubilización de pectinas y contenido total de pared celular (RIA)**

La solubilidad de las pectinas se determinó a partir de la extracción sucesiva en tres solventes: agua, agentes quelantes y carbonato de sodio para obtener las pectinas solubles en agua o débilmente ligadas (PSA), extraíbles con CDTA o asociadas iónicamente (PSC) y aislables por extracción con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (PSN) o fuertemente asociadas a la pared (**Figura III.11**). Las pectinas solubles en agua (PSA) representaron aproximadamente el 40% del total de ácidos urónicos (AU) de la pared celular al inicio del almacenamiento y esta proporción aumentó a aproximadamente 50% a los 13 días de refrigeración en los frutos control. Inmediatamente después de la irradiación no se encontraron diferencias en las PSA entre los tratamientos. En contraste, después de 13 días la fruta que recibió los tratamientos de UV fraccionados mantuvo niveles más bajos de PSA. El comportamiento de las PSC fue similar

para el control y para las frutas tratadas antes del almacenamiento. En cambio, los tratamientos con irradiación UV-C fraccionada en múltiples pasos mostraron un nivel más alto de pectina extraíble después de 13 días a 0 °C (**Figura III.11**). Esto puede indicar que la exposición repetida a los rayos UV-C dio lugar a un mayor grado de interacciones iónicas entre los polímeros pécticos, lo que podría suponer que resultaría de diferencias en el grado de esterificación de la pectina. Sin embargo, también se ha demostrado que los cambios en la ramificación del poliuronido afectan la fuerza de las interacciones iónicas de pectina y la capacidad de extracción de polisacáridos con agentes quelantes (**Salato y col., 2013**). El anclaje de las cadenas laterales de galactano RG-I puede haber evitado la solubilización, como han sugerido **Popper y Fry (2005)** y **Zykwinska y col. (2007)**.

Finalmente, la fracción PSN mostró menores cambios durante el almacenamiento (**Figura III.11**).



**Figura III. 11.** Solubilización de pectinas de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2x2 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

### **III.4.6. Ramificación de pectinas ligadas fuertemente a la pared**

Para caracterizar aún más la fracción de pectina fuertemente unida a la pared se evaluó la proporción de azúcares neutros a ácidos urónicos que puede utilizarse como un indicador de su grado de ramificación. El cociente entre azúcares neutros y ácidos urónicos aumentó en la medida que los frutos fueron sometidos a tratamientos más fraccionados de radiación UV-C. Así, las frutillas control mostraron niveles de ramificación 80% superiores a los frutos tratados con UV-C en múltiples pasos (Tabla III.2).

*Tabla III.2. Ramificación (Az totales/Ac urónicos) de la fracción soluble en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C por 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.*

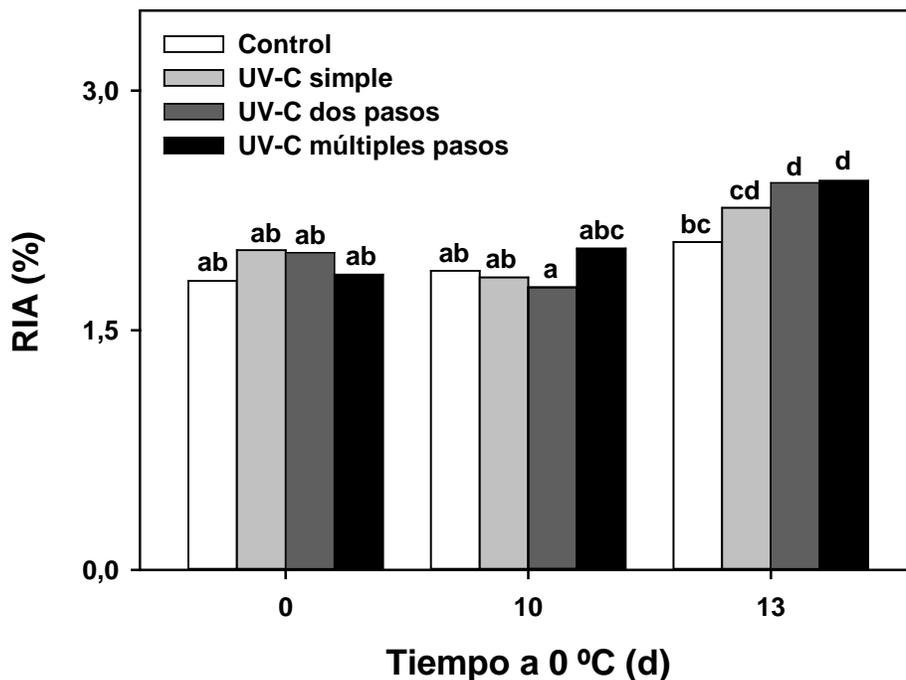
<b>Tratamientos</b>	<b><u>Azúcares totales</u></b> <b>Ac. Urónicos</b>
<b>Control</b>	2,4c
<b>UV-C simple</b>	3,8b
<b>UV-C dos pasos</b>	3,8b
<b>UV-C múltiples pasos</b>	4,3a

Dado que los azúcares neutros están presentes en las cadenas laterales de las pectinas tipo RG I y la proporción de glucanos y mananos en esta fracción es normalmente baja, esto puede, a primera vista, especularse que es el resultado de diferencias en el grado de ramificación de la pectina. Sin embargo, la inferencia sobre la ramificación de pectina a partir de cambios en las proporciones AU es indirecta. Resultaría necesario realizar análisis específicos de azúcares neutros para evaluar los cambios en la relación (Arabinosa + Galactosa) / Ramnosa para respaldar esto aún más con evidencia directa.

Finalmente, se evaluó el residuo obtenido después de una extracción extensa en etanol en ebullición (RIA), que para los frutos que tienen niveles bajos de almidón representa principalmente el material de la pared celular insoluble. Antes del almacenamiento en frío, el RIA fue cercano a 1,9% sin diferencias entre los tratamientos. No se encontraron cambios

significativos en el RIA con los frutos control durante la refrigeración. Contrariamente, las frutillas sometidas a una exposición fraccionada a los rayos UV mostraron una tendencia creciente en los niveles de RIA (**Figura III.12**). El aumento de material insoluble es al menos inesperado, dado que se sabe que la degradación extensa de polisacáridos acompaña al ablandamiento de la fruta (**El Ghaouth y col., 2003**). Una posible explicación para este incremento podría ser la insolubilización de la pared inducida por la exposición a la radiación UV. Se conoce que los tratamientos con UV-C exacerbaban la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Civello y col., 2006**) esto podrían modular el entrecruzamiento de proteínas y compuestos fenólicos de la pared (**Brisson y col., 1994**). Se ha demostrado la reticulación oxidativa mediada por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de proteínas de la pared celular de plantas ricas en prolina (PRP) (**Bradley y col., 1992**).

**Marshall y col., (1999)** hallaron una significativa reducción de la solubilidad del material de la pared celular de plantas sometidas a agentes estresores externos.



**Figura III.12.** Residuo insoluble en alcohol (RIA) de la región externa del receptáculo de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (UV-C simple, 1 x 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C múltiples pasos, 5 x 0,8 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

### **III.5. CONCLUSIONES**

En el presente capítulo se evaluó la influencia de los tratamientos con UV-C convencional y de dosis bajas y repetidas de UV-C en la firmeza de la frutilla, la degradación de polisacáridos de la pared celular y la actividad de los enzimas asociados. Los tratamientos con UV-C retrasaron el deterioro de las propiedades mecánicas de la superficie. Este efecto fue mucho más eficaz en los frutos sometidos a la irradiación de dos y múltiples pasos. Este efecto se relacionó con una mayor inhibición de los enzimas de eliminación de cadenas laterales de hemicelulosa ( $\alpha$ -xilosidasa) y pectina ( $\beta$ -galactosidasa). Con relación al impacto en los polisacáridos de pared los frutos sometidos a tratamientos UV-C repetidos en bajas dosis en el almacenamiento retrasaron la solubilización y mantuvieron una mayor ramificación. Finalmente, se observó un mayor contenido de pared total en los frutos sometidos a tratamientos fraccionados lo que podrían sugerir una insolubilización de componentes probablemente por la inducción de procesos de entrecruzamiento. Los resultados del presente capítulo muestran que la mejora en el mantenimiento de la textura de los frutos sometidos a tratamientos UV-C repetidos en baja dosis respecto a tanto a frutos control o sometidos a tratamientos UV-C convencional en una única aplicación se asocia con un retraso en el desensamblaje de la pared celular.



## **CAPÍTULO IV**

**Efectos superficiales de la aplicación de pulsos de irradiación UV-C en frutilla: Impacto sobre el desarrollo de podredumbres y el contenido de antioxidantes.**

## **IV.1. INTRODUCCIÓN**

### **IV.1.1. Especies reactivas del oxígeno (EROs) y metabolismo antioxidante**

Las especies EROs son átomos o grupos de átomos que o bien poseen electrones desapareados o son fuertes oxidantes (**Halliwell, 1992**). Esto hace que tiendan a captar los electrones de moléculas estables para alcanzar su estabilidad electroquímica. Entre las EROs más relevantes a nivel molecular se destacan el oxígeno singlete, el radical superóxido y el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (**Mittler, 2017; Ji y col., 2020**). Las EROs son generadas durante el metabolismo celular normal (respiración mitocondrial, fotosíntesis, en algunas reacciones enzimáticas, entre otros) y actualmente se acepta que no son sólo un subproducto del metabolismo, sino son de vital importancia en numerosas repuestas fisiológicas que incluyen la señalización celular, la participación como intermediarios o co-sustratos en numerosas reacciones metabólicas (**Waszczak y col., 2018; Lyu y col., 2019**). Particularmente bajo condiciones diversas de estrés, la generación de EROs puede exacerbarse. Esta sobre producción puede ocasionar daño oxidativo en diferentes componentes celulares (proteínas, lípidos). Por ello, a fin de mantener los niveles de EROs bajo control los organismos han desarrollado una serie de estrategias antioxidantes. A partir de esto, resulta claro comprender que una respuesta muy comúnmente descrita al stress por irradiación UV es la inducción de antioxidantes (**Pombo y col, 2011; Urban y col., 2016; Jacobo-Velázquez y col., 2020**).

### **IV.1.2. Principales compuestos antioxidantes en frutos**

Los frutos presentan una gran diversidad de compuestos antioxidantes. Los principales grupos incluyen a los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, el glutatión, los carotenoides, y los tocoferoles y tocotrienoles (**Vicente y col., 2009; Alasalvar y col., 2020**). Estos compuestos derivados principalmente del metabolismo secundario cumplen, dependiendo del metabolito considerado, funciones variadas que exceden la regulación de los niveles de EROs como por ejemplo la contribución a la coloración (ej. carotenoides y antocianinas) (**Cömert y col., 2020; Zacarías-García y col., 2020**) o al sabor y aroma (ej. taninos, compuestos fenólicos volátiles) entre otras (**Torregrasa y col., 2020; Lara y col., 2020**).

Algunas moléculas antioxidantes participan además precursores y/o co-sustratos metabólicos (ej. ácido ascórbico, carotenos), regulan aspectos centrales del desarrollo como la expansión celular (ej. ácido ascórbico) o se encuentran involucradas en procesos de señalización (ej. ácido salicílico), en la estabilización de membranas (ej. tocoferoles y tocotrienoles) en la detoxificación de compuestos xenobióticos (como el glutatión) en la defensa frente a patógenos y/o como componentes estructurales (por ejemplo algunos compuestos fenólicos) (Pérez-Llorca y col., 2019; Steelheart y col., 2020; Janda y col., 2020).

#### ***IV.1.2.1. Compuestos fenólicos***

Representan con más de 6.000 metabolitos diferentes el grupo más diverso de antioxidantes en los vegetales (Duthie y col., 2003, Seeram y col., 2006, KonicRistic y col., 2011). Los mismos derivan de dos rutas la fenilpropanoide a partir de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la ruta del ácido shiquímico. Su característica distintiva es la presencia de anillos aromáticos con grados variables de hidroxilación (Mattila y col., 2006). Contribuyen a la pigmentación de la fruta y actúan como antimicrobianos y disuasorios de insectos herbívoros. Los compuestos fenólicos contribuyen a la astringencia e imparten un sabor amargo en algunos productos como el vino, té verde (Zhang y col., 2020; Zhuang y col., 2020). Son susceptibles de oxidarse mediante peroxidasas y polifenol oxidasas, lo que puede ser una respuesta defensiva que, en muchos casos genera un cambio indeseable desde el punto de vista de la calidad (pardeamiento). Generalmente están presentes en concentraciones bajas, pero en los *berries* suelen encontrarse en una concentración relativamente elevada 0,05 a 0,10%. (Tsao y Deng, 2004; Manach y col., 2005). Pueden agruparse en ácidos fenólicos, flavonoides, y otros compuestos fenólicos (lignanós, estilbenos) (Vuolo y col., 2019). La capacidad antioxidante de muchos compuestos fenólicos se asocia con su capacidad para donar un átomo de H de un grupo hidroxilo aromático a los radicales libres y para deslocalizar un electrón desapareado. Además, algunos compuestos presentan la capacidad de quelar iones metálicos pro oxidantes como el hierro y cobre.

### *a. Ácidos fenólicos*

Son compuestos de estructura relativamente más simple. Se encuentran formados por un único anillo aromático sustituido. Se subdividen en derivados de los ácidos benzoico y cinámico (**Benbrook, 2005**). Los derivados del ácido benzoico más abundantes son los ácidos *p*-hidroxibenzoico, vainílico, sirínico y gálico, mientras que los derivados comunes del ácido cinámico incluyen los ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico. Los derivados difieren en el grado de hidroxilación y metoxilación del anillo aromático (**Zhang y col., 2019**). El ácido cafeico es el más abundante en los *berries* (**Mattila y col., 2006**), mientras que el cumárico suele estar presente en concentraciones más bajas (**Rice-Evans y col., 1997**). El ácido ferúlico representa el 90% del total de ácidos fenólicos en los cereales (**Scalbert y Williamson, 2000; Manach y col., 2005**). Estos compuestos se encuentran en forma soluble, aunque en muchos casos pueden asociarse estructuralmente con las paredes celulares. Se conoce que varios miembros de este grupo presentan capacidad antimicrobiana (**Soto y col., 2019; Liu y col., 2020; El-Hefny y col., 2020; Mehmood y col., 2020; Vallejo y col., 2020; Rashmi y Negi, 2020**).

### *b. Flavonoides*

Son un gran grupo de compuestos fenólicos. Cuentan con dos anillos aromáticos asociados por un heterociclo oxigenado de tres carbonos. Por lo general, están presentes como glucósidos, que son más solubles que los aglicones correspondientes, y suelen encontrarse compartimentados en las vacuolas (**Rice-Evans y col., 1997**). Dada la diversidad de estructuras posibles los flavonoides se han subdividido en distintos grupos, i) las flavonas y flavonoles, ii) las flavanonas y flavanoles, iii) las isoflavonas, iv) las proantocianidinas y v) las antocianidinas (**Le Marchand, 2002; Kaushal y col., 2020**).

*i) Flavonas y flavonoles.* Los flavonoles se caracterizan por presentar un anillo central de 3-hidroxi-4-pirano (**Rice-Evans y col., 1997**). Los más comunes son la quercetina y el kampferol (**Manach y col., 2005**). Las flavonas poseen una estructura similar, aunque carecen de OH en la posición 3 del anillo central. En este último subgrupo los compuestos

más comunes son la rutina, la luteolina y la apigenina. Estos compuestos se encuentran en abundancia en cebolla arándano, apio y cítricos.

*ii) Flavanonas y flavanoles.* Las flavanonas se diferencian de otros flavonoides por no presentar su doble enlace en la posición 2,3 del anillo central, mientras que los flavanoles carecen de un grupo carbonilo en la posición 4. El jugo de naranja contiene el glicósido de flavanona hesperidina (**Tripoli y col., 2007**). Los flavonoides catequina y epicatequina son comunes en los *berries* (**Rice-Evans y col., 1997; Labadie y col., 2020**).

*iii) Isoflavonas.* Se encuentran presentes en las leguminosas (**Tsimogiannis y Oreopoulou, 2019**). Los productos de soja son una buena fuente de estos compuestos (**Manach y col., 2004**). Las tres isoflavonas más comunes son genisteína, gliciteína y daidzeína (**Ma y col., 2019**).

*iv) Proantocianidinas.* Son flavonoides oligoméricos (generalmente atenuadores u oligómeros de catequina y epicatequina). Son comunes en la piel y semillas de uva y en el vino (**Gu y col., 2004; Basalekou y col., 2019; Poudel y col, 2020**). Otras fuentes incluyen manzana, almendra (**Li y col, 2020; Bodoira y Maestri, 2020**).

*v) Antocianidinas.* El término antocianinas se deriva de las palabras griegas *anthos* y *cian*, que significan flor y azul, respectivamente. Son pigmentos que aportan colores rojos o morados característicos a algunas frutas (**Faggio y col, 2017**). Debido a su amplia distribución, las antocianinas son antioxidantes muy comunes en la dieta. La estructura básica de las antocianidinas se deriva del catión flavilio (2-fenil-benzopirilo) (**Goulas y col., 2012**). Existen seis antocianidinas diferentes que se diferencian entre sí por los sustituyentes (OH, H u OCH<sub>3</sub>) asociados con los anillos fenólicos: la pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina. La más frecuente en la naturaleza es la cianidina (30%) seguida por la delphinidina (22%) y pelargonidina 18% (**Andersen y Jordheim, 2007**). Las antocianidinas suelen estar glicosiladas o aciladas, lo que aumenta o reduce la solubilidad, respectivamente. Los azúcares pueden estar presentes como mono, di o trisacáridos. La forma principal de antocianinas en la mayoría de las frutas es el monoglucósido, generalmente del

70 al 100% del total. La glucosa, galactosa, ramnosa y arabinosa son los azúcares más comunes en las antocianinas. Los agentes acilantes incluyen los ácidos cafeicos, *p*-cumárico, ferúlico y sinápico (Wu y col., 2006; Castañeda-Ovando y col., 2009). Las antocianinas forman co-pigmentos con algunos iones metálicos o compuestos orgánicos incoloros en asociaciones complejas. Tal interacción puede cambiar los tonos de los pigmentos y aumentar la intensidad (Boulton, 2001). El color de las antocianinas se ve afectado por el pH. A pH bajo, el catión flavilo aporta colores morados y rojos. A pH más alto (2 a 4), predomina la especie azul quinoidea. Las concentraciones de antocianinas varían desde indetectables hasta 6.000 mg kg<sup>-1</sup> en algunos *berries*.

### *c. Otros compuestos fenólicos*

Existen algunos otros tipos de compuestos fenólicos no enmarcados entre los grupos anteriores y que pueden tener relevancia como antioxidantes en algunas especies como los lignanos y el resveratrol. Los lignanos son estructuras di fenólicas formadas por la asociación de dos derivados del ácido cinámico (Liu, 2007). Están presentes en las semillas de lino, los cereales y legumbres, pero no en forma significativa en las frutas y hortalizas. Los estilbenos incluyen compuestos como el resveratrol abundante en la uva que han recibido gran atención debido a sus propiedades anti cancerígenas sugeridas (Langcake y Pryce, 1977; Kumar y col., 2020).

#### *IV.1.2.2. Ácido ascórbico y glutatión*

El ácido ascórbico (AsA) es una vitamina hidrosoluble, con propiedades antioxidantes. Se considera el agente reductor más importante a nivel extracelular. De todos modos, también poseen un rol importante a nivel intracelular especialmente a nivel de las mitocondrias y cloroplastos. Las plantas sintetizan el AsA en una ruta que utiliza a la galactosa como precursor. Asimismo, se ha descrito una ruta que emplea al ácido galacturónico (Yuan y col., 2020). El contenido de AsA varía marcadamente dependiendo del producto considerado desde 1 a 150 mg/100 g (Lee y Kader, 2000). La acerola, la rosa mosqueta, el kiwi, la guayaba, el pimiento, los cítricos y el brócoli se ubican dentro de los productos vegetales con mayor contenido de vitamina. El ácido ascórbico suele ser uno de los antioxidantes más lábiles en la poscosecha (Sanmartin y col., 2007; Leong y Oey, 2012;

**Kang y col., 2020**). En los *berries* el nivel es relativamente elevado (**Pantelidis y col., 2007**). Las frutas y hortalizas en forma fresca o como jugo aportan más del 90% de la vitamina C en la dieta (**Hiza y Bente, 2007**).

El glutatión ( $\gamma$ -glutamil-cisteinil-glicina) es un metabolito esencial con múltiples funciones en plantas. Por largo tiempo se ha reconocido que el glutatión (GSH) es oxidado (GSSG) por las EROs para prevenir la oxidación de compuestos celulares sensibles. A diferencia de las formas oxidadas de muchos otros compuestos secundarios que también pueden reaccionar con las EROs el glutatión puede ser rápidamente reciclado por acción de la enzima glutatión reductasa dependiente del NADPH. También se conocen funciones del glutatión vinculadas al metabolismo de defensa y detoxificación contra xenobióticos vinculados con las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y transferasa (GST) respectivamente (**Foyer y Noctor 2003**). El glutatión si se lo compara con otras moléculas que presentan grupos tiol se acumula a una alta concentración. En general el GSH se acumula en concentración milimolar lo que excede marcadamente el nivel de cisteína libre. Asimismo, suele encontrarse normalmente en forma mayoritaria en la forma reducida. En ausencia de stress las hojas por ejemplo presentan un cociente entre GSH a GSSG de 20 (**Mhamdi y col., 2010**).

#### **IV.1.2.3. Carotenoides**

Los carotenoides son pigmentos vegetales liposolubles cuya estructura molecular básica consiste en un poli isoprenoide con una serie de dobles enlaces conjugados ubicados en la porción central de la molécula (**Honda y col., 2020; Honda, 2020**). Esto permite formar moléculas excitadas, y por lo tanto inhibidores eficientes de EROs y de radicales libres, el mecanismo puede ocurrir en al menos tres formas posibles: (1) formación de aductos, (2) sistema de transferencia de electrones y (3) extracción de hidrógeno alílico.

Los carotenoides se pueden subdividir en:

-Carotenos: presentan una cadena de hidrocarburo parental sin ningún otro grupo funcional:  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y licopeno.

-Xantofilas: contienen oxígeno como grupo funcional: luteína y zeaxantina.

Las frutas y hortalizas son la principal fuente de carotenoides y desempeñan un papel importante en la dieta debido a la actividad de la vitamina A (**Haskell, 2013**). Los carotenoides aportan colores color amarillo, naranja o rojo a muchos productos (**Maoka, 2020**). Las frutas y la zanahoria son generalmente ricas en  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -caroteno. La  $\alpha$ -criptoxantina y la zeaxantina se pueden encontrar en mandarina, naranja y papaya (**Khalid y col., 2019**). El licopeno, es responsable del color rojo brillante del tomate y sus productos derivados (**Manzo y col., 2019**). En hojas verdes los carotenoides más abundantes son la luteína (45%) el  $\beta$ -caroteno (25-30%), la violaxantina (10-15%) y la neoxantina (10-15%) (**Priyadarshani y Jansz, 2014**) aunque su concentración absoluta varía considerablemente dependiendo del producto considerado (**Khoo, y col., 2011**)

#### ***IV.1.2.4. Tocoferoles y tocotrienoles***

Estos compuestos se conocen genéricamente como tococromanoles (**Manganaris y col. 2018**). Pueden existir en 8 formas diferentes (cuatro tocoferoles  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$  y cuatro tocotrienoles  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$ ). Las cuatro formas difieren según el número y posición de los grupos metilo dentro del anillo de cromanol. De todas las formas de vitamina E el  $\alpha$ -tocoferol es la más activa (**Price y Preedy 2020**). La palta, la aceituna y las nueces son productos con alto nivel de tocoferoles y tocotrienoles (**Georgiadou y col. 2019**). Los *berries* se caracterizan por poseer bajo contenido de estos compuestos.

#### **IV.1.3. Impacto de tratamientos UV-C durante la poscosecha en los niveles de antioxidantes en frutos**

Varios estudios han informado que la radiación UV-C puede impactar a los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos de los frutos (**Niles y col., 2003; Oms-Oliu y col., 2008; González-Aguilar y col., 2010; Ha y col., 2010; Gülçin, 2010**). Si bien el tipo de compuestos inducidos es variable, los mayores efectos se han encontrado para los compuestos fenólicos y en algunos casos para el ácido ascórbico. A la hora de identificar los factores que determinan el nivel de inducción de antioxidantes como la clase de compuestos elicitados, las variables involucradas se conocen en forma incompleta. Claramente la especie y cultivar son dos factores importantes. En uva **Cantos y col. (2007)** mostraron que al

someter cinco variedades a tratamientos UV el genotipo afecta el grado de respuesta encontrado. Similares resultados informaron **Perkins-Veazie y col., (2008)** quienes hallaron que Bluecrop mostró mayor acumulación de compuestos fenólicos en un estudio multivarietal. En frutilla más de una decena de trabajos han evaluado el efecto de la irradiación UV en antioxidantes. La mayor parte de ellos han referido a la dosis de radiación como otra variable determinante de la activación del metabolismo antioxidante de los frutos (**Allothman y col., 2009**). Otro factor que se conoce que posee influencia en el incremento de antioxidantes ocasionado por la irradiación UV es el grado de procesamiento del vegetal. Al respecto se ha informado que en términos generales cuanto mayor es el grado de trozado se incrementa la inducción de estos compuestos (**Jacobo-Velázquez y col., 2015; Wu y col., 2019; Li y col., 2019; Guan y col., 2020; Surjadinata y col., 2021**).

Estudios más recientes han identificado a la *intensidad de radiación* más allá de la dosis total como una variable importante. **Darré y col. (2017)** hallaron que tratamientos con elevada intensidad para una misma dosis logran aumentos más marcados en brócoli irradiado. Todos los estudios realizados a la fecha en frutillas tratadas con radiación UV-C en poscosecha y evaluando su impacto en los antioxidantes han realizado tratamientos convencionales, consistentes en una única exposición antes del almacenamiento. Por el contrario, el efecto que posee la aplicación repetida a bajas dosis no ha sido investigado. Otro aspecto que no se ha estudiado con detalle es si la acumulación de compuestos antioxidantes ocurre en todo el fruto o preferencialmente en la región superficial. Si bien se sabe que la radiación UV-C posee muy baja penetración (**Chen y col., 2020**) no existen estudios en frutos que hayan determinado con certeza ese grado de transmitancia superficial de la piel de los frutos. Por otra parte, más allá de esto existe evidencia de algunas respuestas sistémicas inducidas por la irradiación (**Vega y col., 2020**). En el presente capítulo se estudió el impacto de la aplicación de tratamientos fraccionados a lo largo del almacenamiento en la inducción de antioxidantes con respecto a tratamientos convencionales de irradiación en forma previa a la refrigeración. Para ello se estudiaron los cambios en la capacidad antioxidante contra los radicales ABTS<sup>+•</sup> y DPPH<sup>•</sup>, el contenido de diferentes grupos de compuestos fenólicos (fenoles totales flavonoides totales antocianinas ácidos fenólicos), ácido ascórbico reducido y oxidado, glutatión reducido y oxidado y carotenoides en la zona superficial y en la región central del receptáculo en respuesta a diferentes patrones de irradiación UV-C. Asimismo, se

evaluó en los mismos frutos la incidencia y severidad en el ataque de hongos en el almacenamiento para establecer si existe una asociación entre los niveles de los compuestos antioxidantes y las podredumbres de poscosecha

## **IV.2. OBJETIVO**

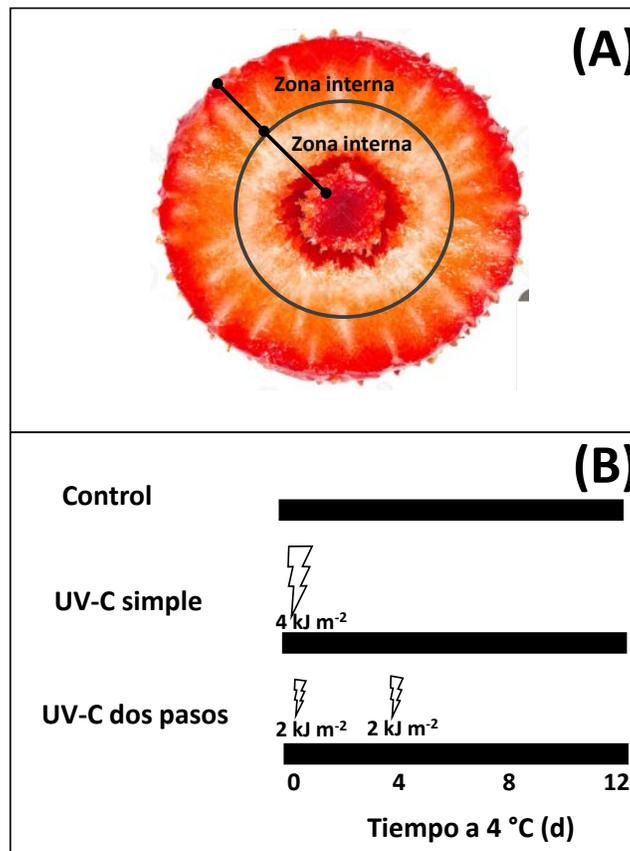
- *Evaluar la influencia del patrón de irradiación poscosecha UV-C sobre la incidencia y severidad de podredumbres y los niveles de antioxidantes en la zona externa e interna del receptáculo de frutilla refrigerada.*

### IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### IV.3.1. Material vegetal, tratamientos y almacenamiento

Frutilla cv. Camarosa se cosechó con 100% de color rojo superficial y se llevó inmediatamente al laboratorio. Los frutos se seleccionaron adicionalmente por su tamaño ( $3 \pm 0,3$  cm de diámetro del hombro) y se eliminaron aquellos que presentaron defectos o daño físico y se colocaron en bandejas de polietileno tereftalato (PET), en grupos de diez unidades. Las bandejas se irradiaron en un banco de UV-C (intensidad de radiación de  $36 \text{ W m}^{-2}$ ) descrito en el **Capítulo I** para obtener los siguientes tratamientos:

- Control:** Frutos sin exposición a la radiación UV-C.
- UV-C simple:**  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  aplicación de UV-C antes del almacenamiento;
- UV-C dos pasos:** dos aplicaciones de UV-C de  $2 \text{ kJ m}^{-2}$  al inicio y luego de 4 días de almacenamiento.



*Figura IV.1 A) Corte de los discos de la zona transversal de frutilla y B) tratamientos empleados en el presente capítulo.*

En todos los casos, la dosis e intensidad de radiación se determinaron con un radiómetro UV-C. Finalizados los tratamientos las muestras se cubrieron con una tapa de plástico perforada y se almacenaron 0, 10 o 13 días a 4 °C en oscuridad. Se utilizaron cuatro bandejas con 10 frutos cada una por tratamiento y tiempo de almacenamiento. Luego del período de almacenamiento, los frutos se evaluaron a fin de determinar la incidencia y severidad de podredumbres. Posteriormente los frutos se cortaron transversalmente al eje principal en la zona ecuatorial para obtener dos discos consecutivos de 4 mm de espesor (**Figura 1**). Los discos se disectaron con un bisturí para separar la zona externa (3 mm) y la zona interna del receptáculo. Las muestras de la zona interna y externa se utilizaron para la determinación de antioxidantes en forma inmediata o bien se congelaron en N<sub>2</sub> líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

### **IV.3.2. Determinaciones analíticas**

#### ***IV.3.2.1. Incidencia y severidad de podredumbres***

La incidencia de hongos se calculó a partir de la determinación del porcentaje de frutos con síntomas incipientes de descomposición (maceración local del tejido). Para evaluar la severidad de las podredumbres se empleó una escala de calidad hedónica de cuatro puntos (1: frutos sin deterioro, 2: con podredumbres muy incipientes 3: con podredumbre baja, 4: podredumbre marcada). El índice se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:  $DSI = \sum \text{nivel de severidad} \times N^{\circ} \text{ de frutos en el nivel} / N^{\circ} \text{ total de frutos}$ . Se evaluaron cuatro bandejas con diez frutos cada una para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.2. Capacidad antioxidante contra el radical DPPH •***

El ensayo de capacidad antioxidante contra el radical DPPH• se realizó de acuerdo con **Brand-Williams y col. (1995)**. Las muestras congeladas en N<sub>2</sub> líquido se trituraron en un molino y se añadió 1 g del polvo resultante a 10 mL de etanol al 96 % v/v y se agitó durante 30 min. La suspensión obtenida se centrifugó a 14.000 × g durante 10 min a 4 °C (Sorvall RS 5B, Sorvall Inc. Estados Unidos). Se recogió el sobrenadante y se volvió a extraer el pellet en las mismas condiciones. Se combinaron ambos sobrenadantes para obtener el extracto. La extracción de muestras se realizó por duplicado. Para el dosaje de capacidad

antioxidante se adicionaron diferentes alícuotas de extractos etanólicos a analizar (40, 80, 100, 120 y 160  $\mu\text{L}$ ) se completaron a 200  $\mu\text{L}$  con etanol y se adicionó en cada tubo de reacción 1 mL de DPPH $\cdot$  (40 mg  $\text{L}^{-1}$  en etanol). Se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro hasta que la medida alcanzó una meseta (aprox. luego de 1,5 h). La capacidad antioxidante se definió a partir de la cantidad de extracto necesaria para reducir en un 50% la absorbancia inicial de una muestra en blanco sin extracto con 200  $\mu\text{L}$  de etanol y 1 mL de DPPH $\cdot$  (40 mg  $\text{L}^{-1}$  en etanol) que se denominó  $\text{EC}_{50}$ . La capacidad antioxidante se expresó como  $\text{EC}_{50}^{-1}$  ( $\text{kg}^{-1}$ ). Las mediciones se realizaron en triplicado para cada tiempo de tratamiento y el almacenamiento. Los resultados se expresaron en gramos por kg de peso fresco.

#### ***IV.3.2.3. Capacidad antioxidante contra el radical ABTS $\cdot^+$***

La capacidad antioxidante de los extractos etanólicos preparados como se describió en 3.2.2. se evaluó de acuerdo con **Arnao y col., (2001)**. Se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro después de 6 min de reacción. Se utilizó Trolox $\text{\textcircled{R}}$  (Sigma Aldrich, Estados Unidos) como estándar y los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) en mg  $\text{kg}^{-1}$  de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.4. Fenoles totales***

El contenido de compuestos fenólicos se determinó en los extractos etanólicos utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu de acuerdo con **Singleton y col., (1999)** con modificaciones menores. Se mezclaron alícuotas de extractos etanólicos de los frutos (100  $\mu\text{L}$ ) con 50  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin-Ciocalteu (1:1 v/v en agua). Luego de 3 minutos se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20% m/v en NaOH 0,1 M) y 1,25 mL de agua. Las muestras se incubaron por 90 minutos a 20  $^\circ\text{C}$  y se midió la absorbancia a 760 nm. Se utilizó ácido clorogénico como estándar y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido clorogénico por kilogramo de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.5. Flavonoides totales***

Los flavonoides totales se determinaron según **Shin y col. (2007)** con modificaciones. El extracto etanólico de los frutos preparado según se describió en la sección 3.2.2 (400  $\mu\text{L}$ ) llevó a 500  $\mu\text{L}$  con agua destilada y de adicionaron 40  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  (5% p/v). Luego de incubar a 20 °C por 5 min, se agregaron 40  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  (10% p/v). Luego de 6 min de reacción se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  (1 M). Las mezclas de reacción se llevaron a un volumen final de 1,25 mL con agua destilada. La absorbancia a 510 nm se midió en un espectrofotómetro después de 30 min de reacción. Se utilizó catequina como estándar. Los resultados se expresaron como equivalentes de catequina en miligramos por kilogramo de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.6. Antocianinas***

El contenido de antocianinas se determinó espectrofotométricamente como describieron previamente **Concellón y col. (2007)**. Muestras congeladas en nitrógeno se trituraron en un molino y aproximadamente 0,2 g del polvo se extrajo con 5 mL de metanol: conteniendo 1% de HCl. Las suspensiones se centrifugaron a 4.500 x g durante 10 min a 4 °C. La absorbancia del sobrenadante se midió a 515 nm. Los resultados se calcularon utilizando el coeficiente de extinción molar de pelargonidina-glucósido (36.000  $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) y se expresaron en  $\text{mg kg}^{-1}$  de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.7. Carotenoides***

Las muestras congeladas se trituraron en un molino y se homogeneizaron 1,5 g del polvo resultante con 2 mL de hexano: acetona: etanol (2:1:1 v/v) y 0,4 mL de agua destilada. El extracto se incubó a 20 °C durante 5 min para separar las fases. Finalmente, se midió la absorbancia de la fase de hexano a 444 nm en un espectrofotómetro. El contenido de carotenoides se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar (1.450  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ). Los resultados se expresaron en  $\text{mg kg}^{-1}$  de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **IV.3.2.8. Histolocalización de ácidos fenólicos**

Al menos 5 frutos independientes de cada tratamiento se cortaron en forma transversal al eje principal en la zona ecuatorial y se sumergieron en 10 mL con reactivo de Neu (2-amino-etil difenilborinato 1% p/v en metanol) durante 30 seg. Los ácidos fenólicos se detectaron por fluorescencia luego de excitar las muestras a 425 nm (**Zaro y col., 2014**). La emisión de las muestras se examinó a 480 nm en un estereomicroscopio óptico (Leica MZ10F, Leica Microsystems Ltd., Alemania). Las imágenes se obtuvieron con una cámara digital Leica DFC490 (Leica Microsystems Ltd., Alemania). Se realizaron controles negativos analizando rodajas sumergidas en metanol.

#### **IV.3.2.9. Ácido ascórbico (AsA) y ácido deshidroascórbico (DHA)**

Se determinó por HPLC según la técnica descrita por (**Gómez y col, 2008**). Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se trituraron en un molinillo previamente enfriado hasta formar un polvo. Doscientos miligramos de muestra se colocaron en 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) al 3 % v/v frío. Las muestras se agitaron durante 1 minuto y se centrifugaron a 16.000 x g por 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se trasvasó a nuevos tubos que se conservaron en hielo. Se sembraron 500 µL de sobrenadante en una columna de SEP-PAK VAC C18 3CC (Waters Corp, Irlanda) previamente equilibrada con 2 mL de metanol y se eluyó con 2 mL de agua de grado HPLC y 2 mL de buffer fosfato de potasio 100 mM pH 7,0. Se descartaron los primeros 500 µL de muestra y los siguientes 500 µL del buffer mencionado. Finalmente se recogieron en un tubo los 1,5 mL que se emplearon para determinar el contenido de AsA. Para el dosaje se tomaron 240 µL de muestra se adicionaron 240 µL de una solución de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100mM, 15 µL de agua y 50 µL de TFA 10 % v/v. Las muestras se filtraron y se inyectaron en un HPLC equipado con una bomba LC-20AT una columna MicroSpher C18 S100 x 4,6 mm Repl (Agilent Technologies, Holanda) y un detector Uv-Vis SPD-1 AV (Shimadzu Corp, Japón). Se empleó como fase móvil buffer fosfato de potasio 100 mM pH 3 a un flujo de 0,5 mL por minuto. La detección se realizó a 265 nm. Se utilizó un estándar de ácido L-ascórbico con una pureza mínima del 99%. Para la determinación del AsA + DHA se utilizó el ditiotreitól como agente reductor del DHA como pretratamiento de las muestras. Para ello las alícuotas de 240 µL de extracto se adicionaron a 240 µL de una solución de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100 mM, más 15 µL de ditiotreitól 100

mM. La muestra se agitó y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por el término de 10 minutos. Para detener la reacción se agregó al medio 50  $\mu\text{L}$  de TFA 10 %. Las muestras se filtraron y se analizaron según se describió anteriormente. Se utilizó ácido L-ascórbico como estándar y los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  de peso fresco. La extracción de muestras y las mediciones se realizaron por duplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### ***IV.3.2.10. Glutación reducido (GSH ) y oxidado (GSSG)***

La concentración de glutación reducido (GSH) y glutación oxidado (GSSG) se midió de acuerdo con **Griffith (1980)** con modificaciones menores. El medio de reacción contenía buffer fosfato 100 mM (pH 7,5), ácido etilendiaminotetraacético 5 mM, ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico, 0,5 mM de ácido nicotinamidadinucleotidofosfato, 0,2 mM y 0,5  $\text{U/mL}^{-1}$  de glutación reductasa. Para determinar el GSSG, se agitaron en vortex 100  $\mu\text{l}$  de extracto ácido con 2  $\mu\text{L}$  de vinilpiridina (95% v/v). La solución se incubó a 25 °C durante 5 min y luego se centrifugó a 16.000 x g durante 5 min. El sobrenadante se utilizó para determinar espectrofotométricamente GSSG. GSH, GSSG y GSH + GSSG se expresaron como  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  de peso fresco. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **IV.3.3. Análisis estadístico**

Los supuestos del modelo de homogeneidad de varianza y normalidad se evaluaron mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. En el caso de ser necesario se realizaron las transformaciones respectivas de las variables. Las muestras se analizaron mediante un ANOVA con el software INFOSTAT. Las medias se compararon mediante la prueba de rango studentizado de Fisher ( $P < 0,05$ ).

## IV.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IV.4.1. Incidencia y severidad de podredumbres

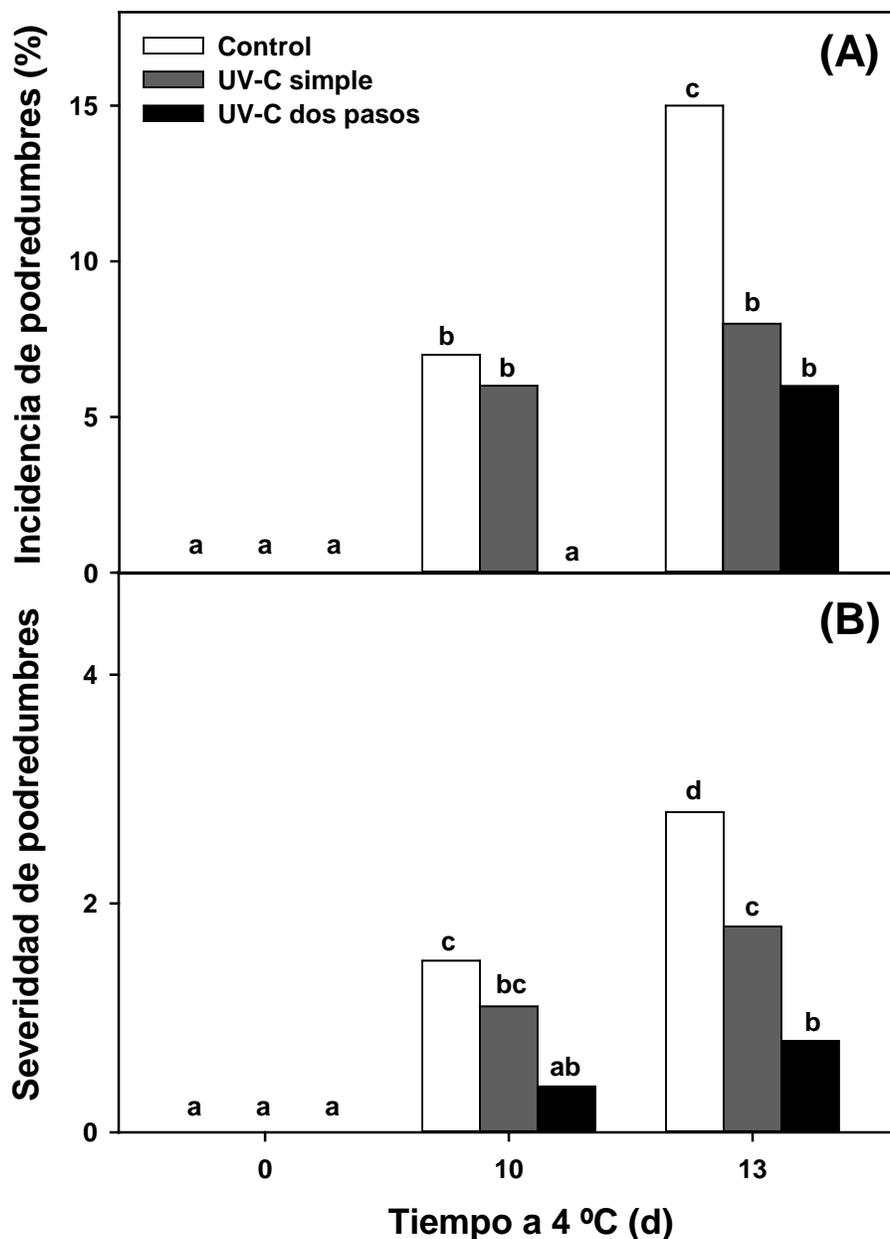


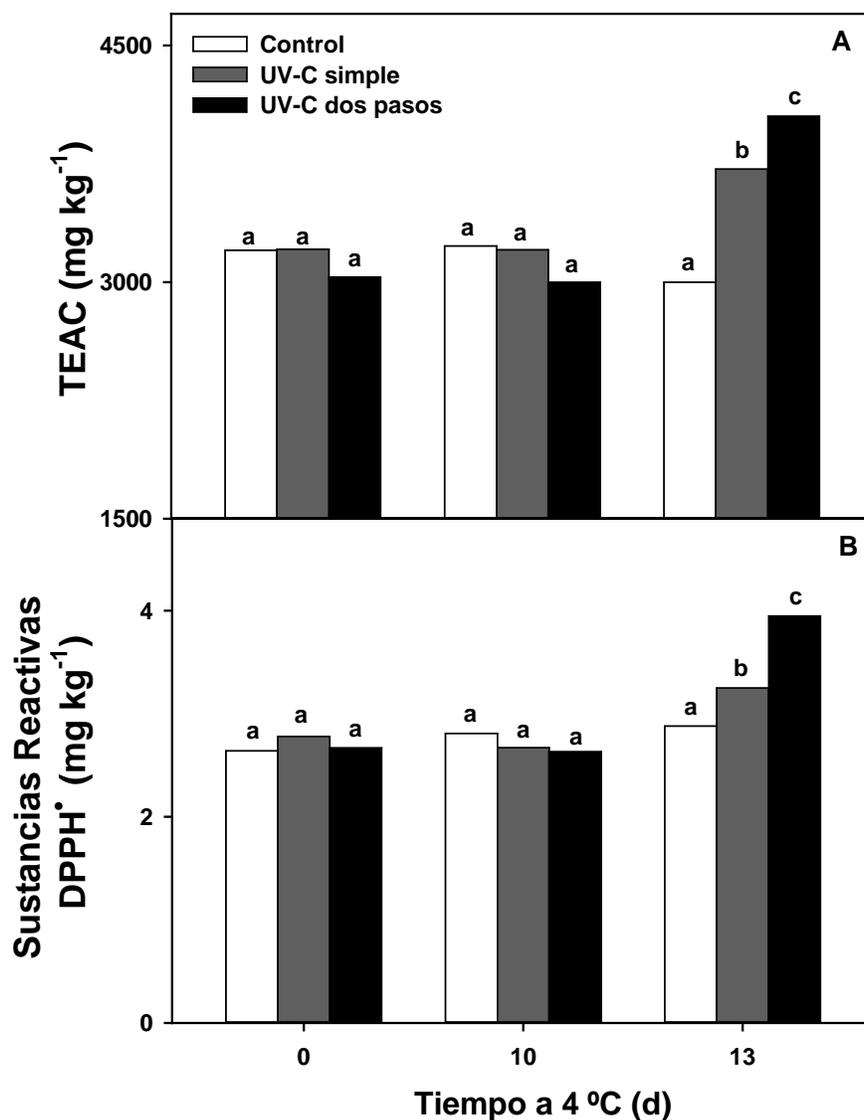
Figura IV.2. A) Incidencia y B) severidad de podredumbres en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2,0 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4 \text{ °C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Los tratamientos UV-C convencionales redujeron tanto la incidencia como la severidad de podredumbres durante la refrigeración respecto a la frutilla control (**Figura IV.2A**). Los efectos se manifestaron en forma más marcada hacia el final del periodo de almacenamiento. En línea con lo descrito en el **Capítulo II** la irradiación en forma repetida en bajas dosis (dos pasos) tuvo un efecto mayor en el control de podredumbres que la irradiación convencional. A los 10 días de almacenamiento ya un 5% de frutos control o tratados en forma convencional con UV-C presentaron podredumbres, mientras que no se detectaron frutos atacados para el tratamiento UV-C de dos pasos. Hacia el final del almacenamiento las diferencias en incidencia de podredumbres en función del modo de aplicación de los tratamientos desaparecieron, pero los frutos tratados con 2 aplicaciones UV-C en baja dosis aun mostraron una severidad significativamente menor que los controles (**Figura IV.2B**).

#### **IV.4.2. Efectos superficiales del modo de aplicación de tratamientos UV-C en los antioxidantes**

##### **IV.4.2.1. Capacidad antioxidante contra los radicales ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>**

El patrón general de cambios observados en la capacidad antioxidante contra los radicales ABTS<sup>•+</sup> (**Figura IV. 2A**) y DPPH<sup>•</sup> (**FiguraIV. 2B**) al iniciar la refrigeración y luego de 10 días de almacenamiento fue similar en todos los tratamientos. Luego de 13 días a 4 °C la capacidad antioxidante se mantuvo estable en las frutillas control, pero se incrementó en los frutos irradiados. Este incremento fue mayor en el caso de los frutos tratados con UV-C en dos pasos que en los expuestos en forma convencional en una única aplicación antes de la refrigeración. El aumento en los frutos tratados en dos pasos respecto al control fue del ~ 40%.



**Figura IV.3.** A) Capacidad antioxidante ABTS<sup>+</sup> (TEAC) y B) Capacidad antioxidante DPPH (sustancias reactivas DPPH<sup>+</sup>) en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple 1 x 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 4 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05.

#### IV.4.2.2. Compuestos fenólicos

Varios trabajos han descrito que la irradiación UV-C favorece el aumento de compuestos fenólicos (Cantos y col., 2002; González-Aguilar y col., 2007; Wang y col., 2009; Bravo y col., 2012; Liu y col., 2011; Pinto y col., 2016). De todos modos, esta

respuesta no se ha observado en todos los trabajos realizados inclusive en frutilla (**Cote y col., 2013**). En el presente estudio el aumento inducido en la capacidad antioxidante en los frutos irradiados correlacionó con el contenido de fenoles totales ( $r = 0,92$  y  $0,85$  para TEAC y DPPH<sup>\*</sup> respectivamente) (**Figura IV. 4A**). Hasta el día 10 de almacenamiento refrigerado no se encontraron variaciones en función de los tratamientos, pero al último tiempo de muestreo se observó un incremento en el nivel de fenoles totales dependiente a su vez del número de aplicaciones UV-C realizadas. Esto resulta de interés considerando que la dosis global recibida por ambos tratamientos fue similar. En tal sentido, los resultados muestran que el patrón de exposición a la radiación resulta en ciertos casos como el presente más relevante que la propia dosis de UV-C.

Los flavonoides representan un grupo de compuestos fenólicos muy importante en la frutilla, ya que las antocianinas particularmente el pelargonidin-glucósido es el compuesto que determina el color de los frutos (**Andrianjaka-Camps y col., 2017; Labadie y col., 2020**). Al analizar el contenido de flavonoides totales se observó hacia el final de almacenamiento un contenido superior en los frutos sometidos al tratamiento UV-C de dos pasos (**Figura IV. 4B**). De todos modos, en este caso las diferencias se debieron en mayor medida a una leve tendencia decreciente en los frutos control y tratados en forma convencional durante el almacenamiento. Las antocianinas presentaron un patrón diferente a los flavonoides totales, con un incremento marcado en el almacenamiento (**Tabla IV.1**). Este aumento fue más rápido en los frutos tratados con UV que mostraron luego de 10 días, y en forma independiente del patrón de irradiación, un nivel de antocianos mayor que el control. Las diferencias desaparecieron a los 13 días de almacenamiento, debido a una recuperación en la biosíntesis de las frutillas no irradiadas. Trabajos previos han informado que la radiación UV puede inducir la biosíntesis de antocianinas (**Severo y col., 2015; Xu y col., 2017; Li y col., 2019**). El hecho que el perfil de flavonoides totales no correlacione con el dosaje de antocianinas sugiere un mayor peso relativo de otros compuestos flavonoides diferente de los antocianos. La catequina y epicatequina (flavan-3-oles) se han descrito como dos de compuestos fenólicos abundantes en frutilla cuyo contenido se reduce conforme procede la maduración (**Aaby y col., 2012**). Resultaría de interés determinar específicamente estos compuestos en futuros estudios para identificare si se trata de los flavonoides más afectados por la irradiación UV-C en frutilla.

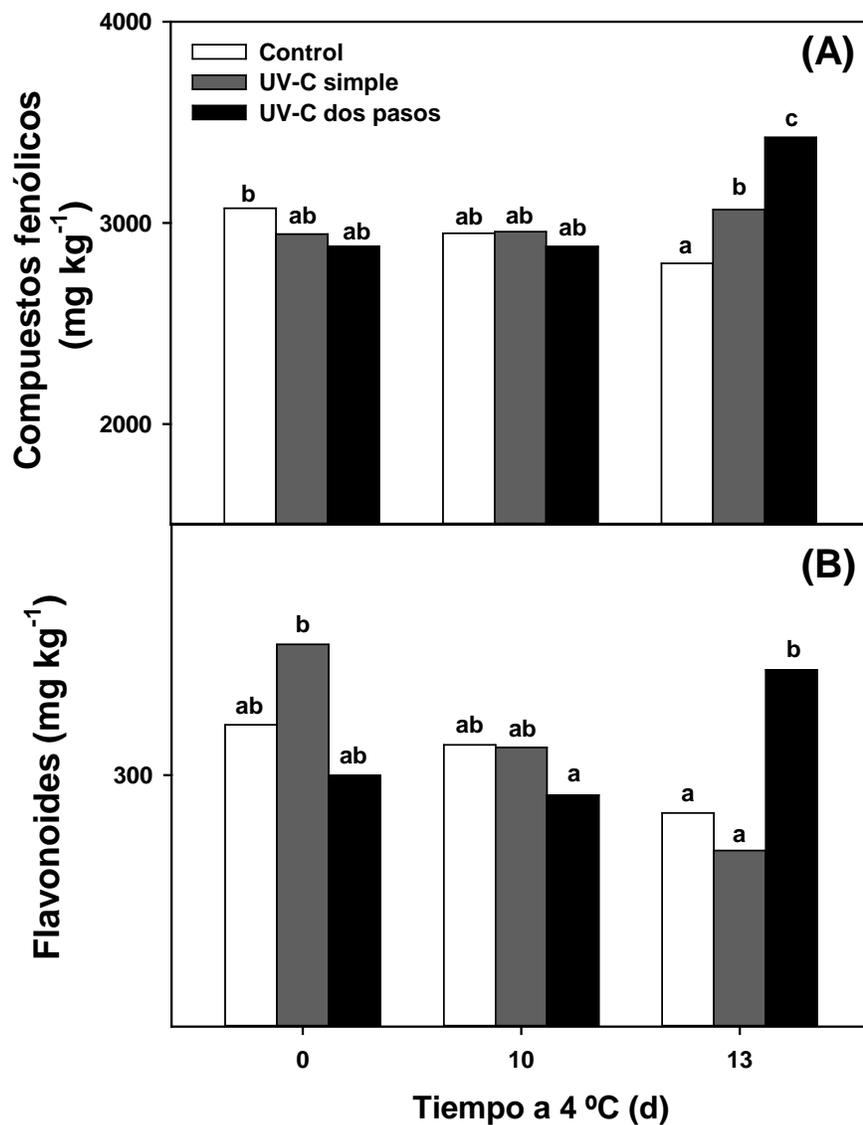
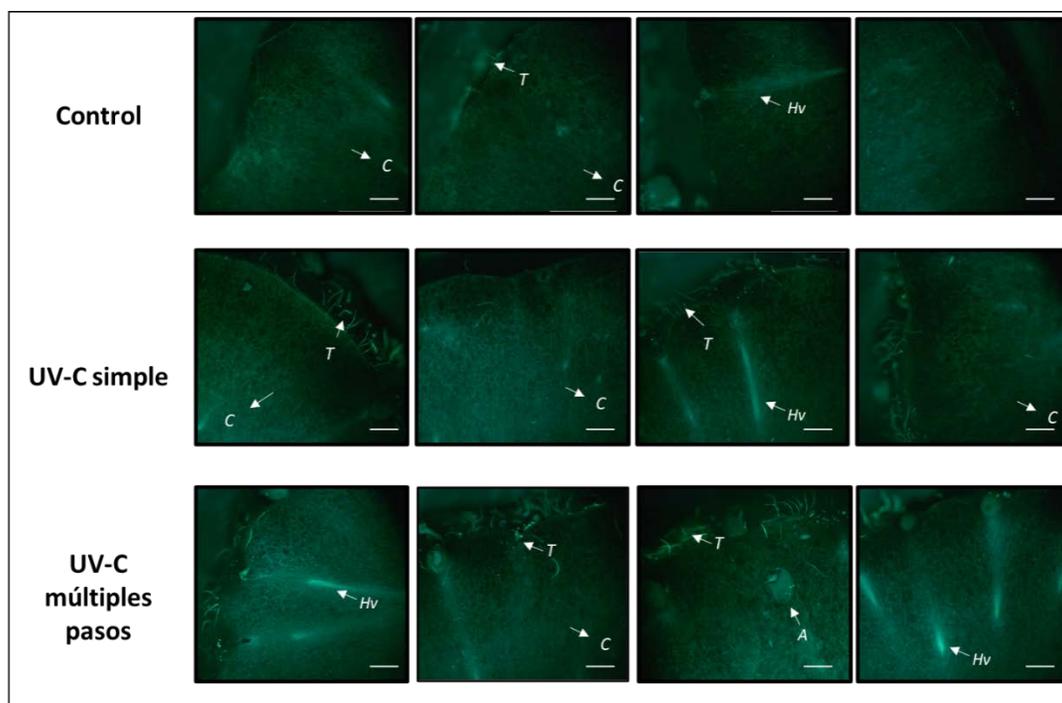


Figura IV.4. A) Compuestos fenólicos y B) flavonoides en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple 1 x 4 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 4 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.

**Tabla IV. 1. Antocianinas en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple 1 x 4,0 kJ m<sup>-2</sup>, UV-C dos pasos, 2 x 2,0 kJ m<sup>-2</sup>) almacenada a 0 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de P<0,05.**

		Tiempo a 4°C (d)		
Antocianinas (mg kg <sup>-1</sup> )	Control	37 c	67 b	90 ab
	UV-C simple	36 c	98 a	89 ab
	UV-C dos pasos	38 c	101 a	82 ab

Los derivados ácidos fenólicos constituyen otro subgrupo de compuestos fenólicos importante en frutas y hortalizas (Vicente y col., 2005; González-Sarrías y col., 2020). A fin de evaluar si los tratamientos UV-C provocaban modificaciones en este grupo de compuestos se analizó su inducción por métodos histoquímicos. Para ello se utilizó el reactivo de Neu capaz de generar productos fluorescentes celestes ante la presencia de ácidos fenólicos (Cushnie y Lamb, 2005; Zaro y col., 2014). A partir de la observación de los cortes de los frutos se observó presencia de ácidos fenólicos en toda la sección de los frutos con prevalencia en las paredes celulares (Figura IV.4). Para todos los tratamientos se observó una señal más intensa en cercanías de los haces vasculares. Estos resultados se encuentran en consonancia con la biosíntesis de paredes secundarias lignificadas en el xilema que requiere de precursores fenólicos (Lagunes-Fortiz, y Zavaleta-Mejía 2016). Un aspecto que resultó particularmente llamativo para los frutos tratados con UV-C fue la fluorescencia en los pelos epidérmicos. En este caso no se alcanzaron a vislumbrar diferencias entre los tratamientos UV-C. De todos modos, el trabajo muestra que el efecto elicitor de la irradiación UV-C es mayoritariamente superficial y limitado a la capa epidérmica. Los resultados son de interés a la luz de la estrecha relación que ha hecho entre los ácidos fenólicos y como compuestos con fuerte capacidad antimicrobiana. Si bien se requiere más trabajo para proporcionar evidencia directa de la implicación de la hiperacumulación de compuestos fenólicos en los tricomas y la susceptibilidad de los frutos irradiados al ataque de hongos los resultados hallados sugieren esta posibilidad.



**Figura IV.5.** Fluorescencia de derivados del ácido hidroxicinámico en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 13 días. La barra blanca equivale a 2 mm. (Hv. Haces vasculares, T. Tricomas, C. Células parenquimáticas, A. Aquenio).

#### **IV.4.2.3. Carotenoides, ácido ascórbico y glutatión**

El contenido de carotenoides no mostró variaciones ni con el tiempo de almacenamiento ni como consecuencia de la irradiación UV-C (**Tabla IV.2**). Esto coincide con la mayor parte de los estudios previos que muestran que no existe un gran impacto o a lo sumo una tendencia a la reducción en los compuestos carotenoides en frutos irradiados con UV-C (**Bravo y col., 2002, Li y col., 2014**). Aún en vegetales en los que estos resultan los antioxidantes predominantes como en zanahoria el impacto más marcado se observó al igual que en el presente estudio en compuestos fenólicos (**Uquiche y Cisneros-Zevallos 2002; Jacobo-Velázquez y col., 2011**).

**Tabla IV.2. Carotenoides en la zona externa de frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**

		Tiempo a $4^\circ\text{C}$ (d)		
		0	10	13
<b>Carotenoides</b> <b>(mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<i>Control</i>	40 a	39 a	39 a
	<i>UV-C simple</i>	38 a	37 a	44 a
	<i>UV-C dos pasos</i>	32 a	32 a	43 a

Los resultados referidos al impacto de la irradiación UV-C en el ácido ascórbico muestran efectos muy variables. Así varios estudios informan resultados contrastantes que oscilan desde aumentos significativos (Artés-Hernández y col., 2010; Pretell, 2019) a falta de variaciones (López y col., 2010; Moreno-Guerrero y col., 2013; Acurio y col., 2015) o aun reducciones (Beltrán y col., 2010). En el presente estudio no se encontraron variaciones en el nivel de AsA ni en la suma de AsA y ácido dehidroascórbico (Figura IV.5) hasta el día 13. En el último tiempo de almacenamiento se detectó un aumento de AsA reducido que se tradujo en un aumento equivalente de AsA total. El tratamiento UV-C fraccionado en este caso mostró niveles similares al control. El cambio observado tuvo menor peso en la capacidad antioxidante que el descrito para compuestos fenólicos totales ya que no mostró correlación con las medidas de capacidad antioxidante total.

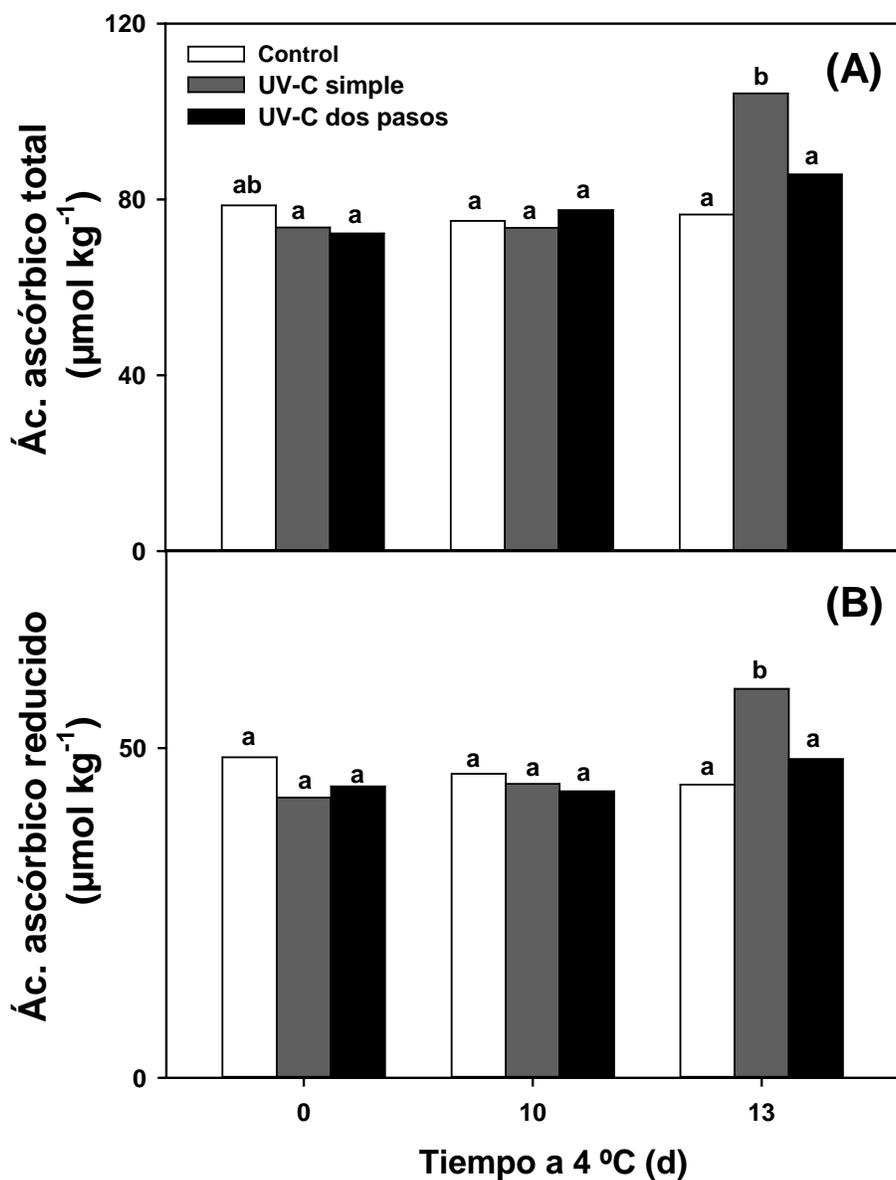


Figura IV.6. A) Ácido ascórbico total, B) Ácido ascórbico reducido en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Finalmente se evaluó el nivel de glutatión. Si bien desde el punto de vista de su aporte dietario el glutatión no posee relevancia si lo posee como un importante regulador de la homeostasis redox a nivel celular en los frutos (**Wiston y Di Giulio, 1991**). Este compuesto puede reciclarse luego de su oxidación para regenerarse (**Alscher, 1989**). Por ese motivo, resulta valioso cuantificar a ambas formas (oxidada y reducida). En el presente trabajo se observó una reducción en el nivel de glutatión total luego de 10 días, aunque sin variaciones entre tratamientos (**Figura IV.6A**). Con posterioridad los niveles de GSH+GSSG no mostraron variación. Cuando se cuantificó la forma reducida también se encontró una reducción conforme progreso la refrigeración y hasta el día 10. De todos modos, hacia el final del periodo de almacenamiento los frutos tratados con UV-C en dos pasos mantuvieron un nivel más alto de GSH que los control o tratados con UV-C en forma convencional (**Figure IV.6B**). Los tratamientos de estrés intenso han mostrado favorecer la oxidación del GSH que resulta una forma de proteger a las células contra el estrés oxidativo (**Bartoli y col., 2017**). Esto se encuentra en consonancia con el mayor nivel de antioxidantes hidrofílicos detectados en los frutos tratados con UV-C en forma fraccionada que permitiría prevenir el deterioro oxidativo de los frutos. En línea con esto se ha identificado a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y la inducción de estrés oxidativo como una de las vías involucradas en la virulencia de agentes fitopatógenos necrótrofos como *Botrytis* (**Kuźniak y Skłodowska, 2001**) lo cual también podría explicar parte de la mejora en la susceptibilidad a podredumbres observada. De todos modos, de momento esto resulta especulativo y sería valioso conocer *a priori* los efectos que el fraccionamiento realizado posee en forma directa sobre el hongo.

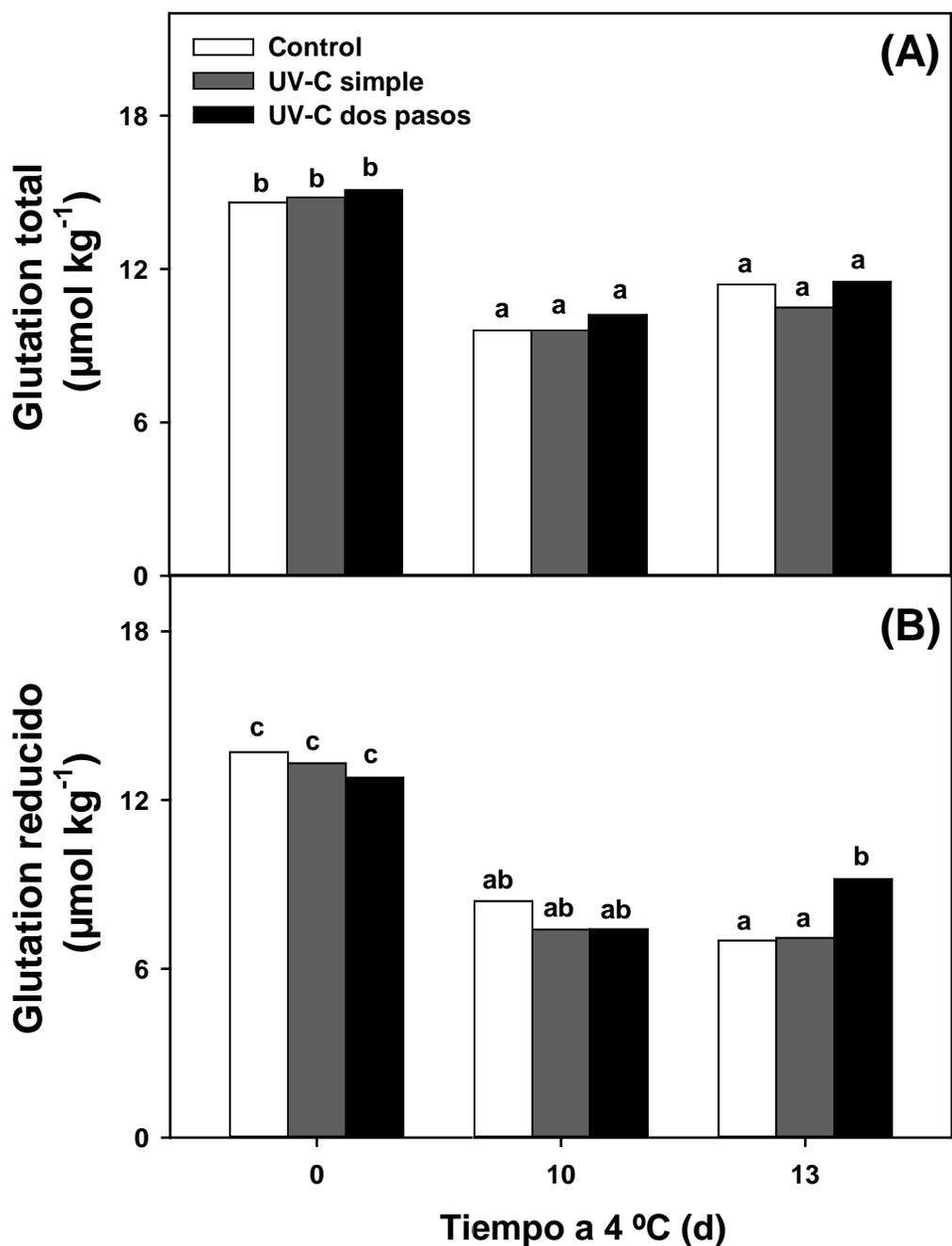
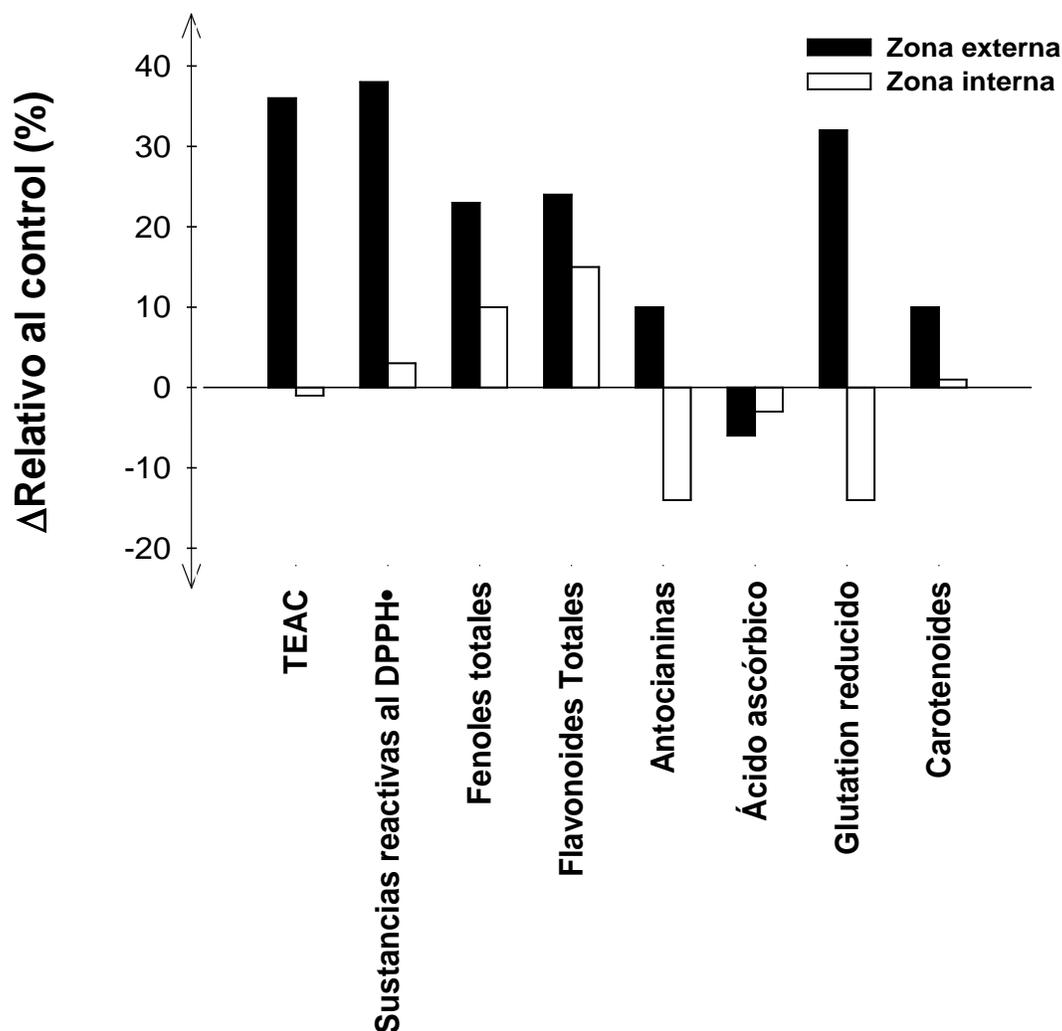


Figura IV.7. A) Glutación total y B) glutación reducido en frutilla control y tratada con radiación UV-C con diferentes niveles de fraccionamiento (Control, UV-C simple  $1 \times 4 \text{ kJ m}^{-2}$ , UV-C dos pasos,  $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$ ) almacenada a 4 °C durante 0, 10 y 13 días. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

#### **IV.4.3. Cambios en los niveles de antioxidantes en respuesta a la irradiación UV-C:**

##### **Diferencias en respuesta entre tejido interno y externo.**

Por último, se analizaron en forma comparativa los cambios en los diferentes grupos de antioxidantes a nivel de la zona externa e interna del receptáculo de los frutos. Los resultados hallados muestran que las variaciones más marcadas respecto al control al final del almacenamiento ocurrieron a nivel de los de los fenoles y del glutatión. Estos incluyen tanto una inducción (capacidad antioxidante, fenoles totales, ácidos fenólicos) como una menor degradación (flavonoides y glutatión reducido). Por otra parte, se observó un efecto mucho más intenso en la zona externa que en la región interna del receptáculo para todos los parámetros medidos. Esto sugiere un impacto mayormente local de la radiación UV-C dado que, en la región interna, los cambios observados no superaron en ningún caso el 15%. Un punto que resulta importante observar es que la disección de los frutos realizada en este estudio es considerado como zona externa 3 mm del receptáculo. A partir de las observaciones histoquímicas se observó que la inducción al menos para los ácidos fenólicos fue extremadamente localizada en la zona epidérmica. En tal sentido los niveles relativos de incremento observados si se hiciera una micro disección podrían esperarse como muy superiores.



*Figura IV.8. Porcentaje de variación de antioxidantes de frutillas tratada con radiación UV-C en forma fraccionada con respecto al control almacenada por 13 días a 0 °C en la zona externa e interna del receptáculo.*

Si bien se acepta que la penetración de la radiación UV-C en cuerpos opacos y sólidos es limitada (Correa y col., 2020) no se encuentra del todo claro si los efectos de la irradiación UV-C en fríos son meramente superficiales o se manifiestan también en la parte interna de los frutos. Algunos estudios han identificado efectos limitados en la zona externa de los vegetales irradiados (Rodoni, 2015b). De todos modos, algunos otros mostraron que tejidos internos de frutos irradiados muestran cambios metabólicos. En durazno se han observado cambios transcripcionales significativos en la zona interna de frutos tratados con UV-C (Santín y col., 2020). Este impacto sistémico estaría mediado por señales que no se han identificado a la fecha. De todos modos, ponen de manifiesto que no resulta una condición

*sine qua non* que los efectos de la exposición UV-C sean necesariamente locales. Más allá de esto en el presente trabajo y en las condiciones empleadas de tratamientos y para los compuestos antioxidantes es posible concluir que el impacto es significativamente más marcado en la zona superficial.

#### **IV.5. CONCLUSIONES**

En el presente capítulo se determinó la influencia del patrón de irradiación UV-C sobre la incidencia y severidad de podredumbres y sobre los niveles de compuestos antioxidantes en frutilla. Si bien la irradiación convencional de una única exposición UV-C antes del almacenamiento redujo la incidencia y la severidad de podredumbres, el efecto fue más marcado cuando la misma dosis final ( $4 \text{ kJ m}^{-2}$ ) se aplicó en dos pasos. Los tratamientos no causaron cambios importantes en los carotenoides, antocianinas o ácido ascórbico, pero aumentaron el nivel antioxidantes totales capaces de neutralizar a los radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>•</sup>. La irradiación fraccionada a lo largo del almacenamiento incrementó el contenido de compuestos fenólicos no flavonoides, especialmente en los pelos epidérmicos de los frutos. Hacia el final del periodo de almacenamiento los frutos tratados con UV-C en *dos pasos* también presentaron un nivel más alto de glutatión en el estado reducido. La comparación de los cambios en estos compuestos en la zona externa e interna de los frutos muestra que el efecto de la irradiación UV-C es mayormente superficial. Si bien resultan necesario mayores estudios para confirmarlo en forma directa los resultados sugieren que la inducción superficial de fenoles, con conocida actividad antimicrobiana, podría estar relacionada con la mejora en la respuesta a patógenos de poscosecha. Los resultados muestran que el patrón de irradiación posee un significativo impacto en el nivel de elicitación de compuestos antioxidantes.



## **CONCLUSIONES FINALES**

La radiación UV ha sido estudiada en profundidad desde hace mucho tiempo por su relevancia ambiental (principalmente UV-A y UV-B) y en el caso de la subregión C, en buena medida, por sus propiedades germicidas. Más allá de esto, se conoce que también es una señal que las plantas pueden detectar inclusive luego de la cosecha. Estas respuestas se encuentran, en el caso de la radiación UV-B mediadas por receptores identificados y caracterizados, y para la zona C se estima que, al menos en parte, ocurre a partir de la modificación del estado redox y de cambios en la producción de especies reactivas del oxígeno que actúan como mensajeros celulares. Por ello, no resulta sorprendente que la exposición a la radiación en esta zona del espectro pueda tener efectos en la calidad de productos metabólicamente activos como las frutas y hortalizas. La irradiación UV-C puede emplearse en estos productos con diferentes objetivos:

- i) Control de enfermedades que ocurren durante el almacenamiento
- ii) Retraso de los procesos de maduración y senescencia
- iii) Incremento en el contenido de antioxidantes
- iv) Reducción de ciertos desordenes fisiológicos

Estas respuestas, si bien promisorias, se ponen de manifiesto en muy diferente grado, dependiendo de:

- a) El producto
- b) Las condiciones de irradiación

Con respecto al producto, los tratamientos UV se han estudiado ya en un elevado número de especies fruti-hortícolas *in natura*, para las que se han descrito con buen grado de detalle, los principales beneficios encontrados en la calidad e inocuidad. Contrariamente, y a pesar del creciente interés y crecimiento comercial de los productos de IV gama o

mínimamente procesados, son muy pocos los estudios que evaluado en qué medida el grado de procesamiento de los vegetales afecta la eficacia de los tratamientos UV en poscosecha. Respecto a las condiciones de irradiación, los estudios realizados hasta el momento han focalizado exclusivamente en el análisis de la dosis total de radiación aplicada como principal variable de proceso. Así, otros factores como la intensidad de la fuente radiante o el patrón de radiación al que se exponen los vegetales (ej. una aplicación o aplicaciones múltiples fraccionadas) no se han analizado. En el **Capítulo I** de la presente tesis se logró establecer que tanto la dosis como la intensidad de radiación son variables centrales del proceso de irradiación UV-C, y por ello, deben considerarse simultáneamente en cualquier intento de optimizar este tipo de tratamientos. Este es un aspecto importante dado que aún hoy, varios trabajos no informan aun la intensidad empleada. En frutilla mínimamente procesada, la condición más efectiva de irradiación UV-C para retrasar el deterioro de los frutos en el almacenamiento fue una dosis de  $4,0 \text{ kJ m}^{-2}$  y una intensidad de  $36 \text{ W m}^{-2}$ . Estos tratamientos reducen la incidencia de podredumbres, retrasan sustancialmente la pérdida de jugos por exudado y ralentizan el ablandamiento, sin afectar otros atributos de calidad organoléptica como la acidez, o los sólidos solubles. Los frutos tratados presentan además mayor puntaje en estudios sensoriales de apreciación visual por consumidores en términos de su frescura, apariencia y aceptabilidad global. Éste primer estudio logró además establecer que al aumentar el grado de procesamiento de los frutos se observa un mayor efecto de los tratamientos UV-C en el mantenimiento de calidad. Esto podría obedecer simplemente a que a mayor nivel de daño mecánico se logra una mejor respuesta, por estar exacerbada la percibibilidad de los frutos como consecuencia del daño mecánico generado. Otra posible interpretación es que al ser mayor el trozado también lo es la superficie directamente expuesta a la radiación y con ello los efectos locales inducidos por ésta. Futuros estudios para elucidar este interrogante resultarían de interés. Más allá de ello, los resultados muestran claramente que los tratamientos UV-C seleccionados y aplicados luego del trozado y lavado permiten suplementar los beneficios de la refrigeración y mantener la calidad de frutilla mínimamente procesada.

En el **Capítulo II** se estudió el impacto del fraccionamiento de una misma dosis total de radiación UV-C a lo largo del almacenamiento, con respecto a tratamientos UV-C convencionales de una única exposición antes de la refrigeración en el comportamiento poscosecha de frutilla. En este trabajo se encontró que los tratamientos con una dosis total de  $4 \text{ kJ m}^{-2}$  a una intensidad radiante de  $36 \text{ W m}^{-2}$ , realizados en dos o múltiples pasos, fueron mucho más eficaces para controlar las podredumbres de poscosecha, el ablandamiento y el pardeamiento del cáliz que la irradiación UV-C en un único paso antes de la refrigeración. Éste es el primer trabajo que informa al patrón de exposición como una variable que puede mejorar la eficacia de los tratamientos poscosecha con radiación UV-C. Si bien por el momento este hallazgo posee trascendencia principalmente básica, resultaría de interés, a la luz de los resultados hallados avanzar en la búsqueda de alternativas que permitan ampliar hacia adelante (en el almacenamiento) la ventana de aplicación de radiación en frutos.

A fin de avanzar en la comprensión de los mecanismos subyacentes al tipo de respuesta encontradas al fraccionamiento de los tratamientos, se estudiaron posteriormente los efectos del patrón de exposición a la radiación UV-C en el metabolismo de paredes celulares y en la textura (**Capítulo III**) y el desarrollo de podredumbres y contenido de antioxidantes no enzimáticos (**Capítulo IV**). Con respecto a los cambios texturales, se confirmó que los tratamientos fraccionados retrasan eficazmente el ablandamiento al inhibir la actividad de los enzimas  $\beta$ -galactosidasa y  $\alpha$ -xilosidasa. La exposición UV-C repetida en dosis pequeñas reduce la solubilización de polisacáridos pécticos, que mantienen un mayor grado de ramificación con azúcares neutros. Por otra parte, la exposición repetida a la radiación UV-C incrementa el contenido de pared celular total (RIA), lo que podría hipotetizarse como una derivación del entrecruzamiento oxidativo de componentes de pared. Ésta, es una posibilidad sobre la que resultaría de interés ahondar los estudios. Finalmente, el fraccionamiento de los tratamientos UV-C controla la incidencia y la severidad de enfermedades fúngicas por mohos en forma más eficaz que los tratamientos convencionales en un solo paso previo a la refrigeración. Los tratamientos UV-C fraccionados exacerbaban la capacidad antioxidante de los frutos contra los radicales  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  y  $\text{DPPH}^{\bullet}$  hacia el final del almacenamiento de forma más marcada que la irradiación UV-C simple. Ésto se debe mayormente a la síntesis de *novo* de compuestos fenólicos siendo los compuestos derivados

del ácido hidroxí cinámico y los flavonoides no antociánicos los que exhiben mayor inducción. También el glutatión reducido mantiene en los frutos tratados con UV en forma fraccionada, mayores niveles hacia el final del almacenamiento. Contrariamente, los carotenoides, y el ácido ascórbico no se modifican en forma marcada en las condiciones de irradiación ensayadas. Este estudio también logró establecer que, el efecto inductor de la irradiación UV-C es mucho más marcado en la región externa del receptáculo que en la zona cortical. Resultaría de interés indagar en los efectos que estos los tratamientos ocasionan en los sistemas antioxidantes enzimáticos, que no fueron abordados. Por otro lado, el alto grado de concentración de fenoles observado a nivel superficial en los frutos irradiados inspeccionados por estudios histoquímicos, sugiere que el estudio aún más focalizado de la zona externa recurriendo a procedimientos selectivos disponibles en recientes años, como la micro disección por captura con láser, permitiría comprender aún mejor el impacto de los tratamientos. Esto resulta de interés por ser ésta la zona en la tiene lugar la interacción vegetal-patógeno y con ella buena parte del destino de los frutos en el almacenamiento.

**REFERENCIAS**

- Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., y Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132(1), 86-97.
- Abdipour, M., Hosseinifarahi, M., y Naseri, N. (2019). Combination method of UV-B and UV-C prevents post-harvest decay and improves organoleptic quality of peach fruit. *Scientia Horticulturae*, 256, 108564.
- Acurio, L., José, J. V., Salazar, D., Pérez, L., y Valencia, A. (2015). Efecto de la temperatura y radiación ultravioleta de onda corta en el contenido de ácido L-ascórbico en zumo de naranja (*Citrus sinensis*). *Alimentos Hoy*, 23(36), 75-87.
- Abu-Goukh, A. B. A., y Bashir, H. A. (2003). Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 83(2), 213-218.
- Agrios, G. N. (1988). Introduction to plant pathology. *Plant Pathology*, 3-39.
- Aguayo, E., Escalona, V. H., y Artés, F. (2008). Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut 'Amarillo' melon. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 397-406.
- Agyare, S., Magan, N., y Xu, X. (2020). Conditions for infection of strawberry fruit by *M. piriformis* and *Rhizopus* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 157, 65-75.
- Alasalvar, C., Salvadó, J. S., y Ros, E. (2020). Bioactives and health benefits of nuts and dried fruits. *Food Chemistry*, 314, 126192.
- Alamar, MC, Collings, E., Cools, K. y Terry, LA (2017). Impacto de la programación de atmósfera controlada en la fresa y el aguacate importado. *Biología y tecnología de poscosecha*, 134, 76–86. doi: 10.1016 / j.postharvbio.2017.08.003
- Ali, A., Yeoh, W. K., Forney, C., y Siddiqui, M. W. (2018). Advances in postharvest technologies to extend the storage life of minimally processed fruits and vegetables. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(15), 2632-2649.
- Allothman, M., Bhat, R., y Karim, A. A. (2009). UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative food science y emerging Technologies*, 10(4), 512-516.
- Alscher, R. G. (1989). Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants. *Physiologia plantarum*, 77(3), 457-464.
- Amos, R. A., y Mohnen, D. (2019). Critical review of plant cell wall matrix polysaccharide glycosyltransferase activities verified by heterologous protein expression. *Frontiers in plant science*, 10, 915.
- Andrianjaka-Camps, Z. N., Heritier, J., Ancay, A., Andlauer, W., y Carlen, C. (2017). Evolution of the taste-related and bioactive compound profiles of the external and internal tissues of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa*) cv. 'Clery' during ripening. *Journal of Berry Research*, 7(1), 11-22.
- AOAC. (1980). *Official Methods of Analysis* (13 ed.). Washington, Estados Unidos: Association of Official Analytical Chemists.
- Archbold, D. D., y Dennis, F. G. (1984). Quantification of free ABA and free and conjugated IAA in strawberry achene and receptacle tissue during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(3), 330-335.

- Arnao, M. B., Cano, A., Acosta, M., (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73, 239-244.
- Artés, F., Garcia, F., Marquina, J., Cano, A., y Fernández-Trujillo, J. P. (1998). Physiological responses of tomato fruit to cyclic intermittent temperature regimes. *Postharvest Biology and Technology*, 14(3), 283-296.
- Artés-Hernández, F., Escalona, V. H., Robles, P. A., Martínez-Hernández, G. B., y Artés, F. (2009). Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (3), 414-421.
- Artés-Hernández, F., Robles, P. A., Gómez, P. A., Tomás-Callejas, A., y Artés, F. (2010). Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 55 (2), 114-120.
- Avalos-Llano, K. R., Molina, R. S., y Sgrosso, S. C. (2020). UV-C Treatment Applied Alone or Combined with Orange Juice to Improve the Bioactive Properties, Microbiological, and Sensory Quality of Fresh-Cut Strawberries. *Food and Bioprocess Technology*, 13(9), 1528-1543.
- Badejo, A. A., Fujikawa, Y., y Esaka, M. (2009). Gene expression of ascorbic acid biosynthesis related enzymes of the Smirnoff-Wheeler pathway in acerola (*Malpighia glabra*). *Journal of Plant Physiology*, 166(6), 652-660.
- Baggio, J. S., Gonçalves, F. P., Lourenço, S. A., Tanaka, F. A. O., Pascholati, S. F., y Amorim, L. (2016). Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing rhizopus rot. *Plant Pathology*, 65(4), 633-642.
- Baka, M., Mercier, J., Corcuff, R., Castaigne, F., y Arul, J. (1999). Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *Journal of Food Science*, 64 (6), 1068-1072.
- Barka, E. A., (2001). Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C. *Functional Plant Biology*, 28, 785-791.
- Barkaoui, S., Madureira, J., Santos, P. M., Margaça, F. M., Miloud, N. B., Mankai, M., ... y Verde, S. C. (2020). Effect of Ionizing Radiation and Refrigeration on the Antioxidants of Strawberries. *Food and Bioprocess Technology*, 13(9), 1516-1527.
- Bartoli, CG, Buet, A., Grozoff, GG, Galatro, A. y Simontacchi, M. (2017). Ciclo ascorbato-glutación y tolerancia al estrés abiótico en plantas. En *Ácido ascórbico en el crecimiento, desarrollo y tolerancia al estrés de las plantas* (págs. 177-200). Springer, Cham.
- Basalekou, M., Kyrleou, M., Pappas, C., Tarantilis, P., Kotseridis, Y., y Kallithraka, S. (2019). Proanthocyanidin content as an astringency estimation tool and maturation index in red and white winemaking technology. *Food chemistry*, 299, 125135.
- Basson, C. E., Groenewald, J.-H., Kossmann, J., Cronjé, C., y Bauer, R. (2010). Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: Invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. *Food Chemistry*, 121(4), 1156-1162.
- Beltrán, A., Ramos, M. y Álvarez, M. 2010. Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con irradiación ultravioleta de onda corta (UV-C). *Revista tecnológica ESPOL*, 23(2) 17-24. Ecuador.
- Benavides G, A., Cisne C, J., y Laguna M, R. (2009). Incorporación de abonos verdes y biofertilizante foliar en. *La Calera*, 9(13), 44-49. Retrieved from <https://lcalera.una.edu.ni/index.php/CALERA/article/view/111>

- Benbrook, C. M. (2005). Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing (pp. 1-20). Washington, DC: Organic Center.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., Kim, J. J., y Carmeli, S. (1992). Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(7), 1217-1221.
- Blumenkrantz, N., y Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, 54(2), 484-489.
- Bodoira, R., y Maestri, D. (2020). Phenolic compounds from nuts: Extraction, chemical profiles, and bioactivity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(4), 927-942.
- Bolívar-Anillo, H. J., Garrido, C., y Collado, I. G. (2020). Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry Reviews*, 19(3), 721-740.
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., y Oulahal, N. (2019). Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457-1474.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American journal of enology and viticulture*, 52(2), 67-87.
- Bower, J. H., Biasi, W. V., y Mitcham, E. J. (2003). Effect of ethylene in the storage environment on quality of 'Bartlett pears'. *Postharvest Biology and Technology*, 28(3), 371-379.
- Brackett, R. E. (1994). Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In *Minimally processed refrigerated fruits y vegetables* (pp. 269-312). Springer, Boston, MA.
- Bradley, D. J., Kjellbom, P., y Lamb, C. J. (1992). Elicitor-and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: a novel, rapid defense response. *Cell*, 70(1), 21-30.
- Brady, C. (1987). Fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology*, 38, 155-178.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*. 28, 25-30.
- Branzanti, E. C. (1989). *La fresa*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Bravo, S., García-Alonso, J., Martín-Pozuelo, G., Gómez, V., Santaella, M., Navarro-González, I., y Periago, M. J. (2012). The influence of post-harvest UV-C hormesis on lycopene,  $\beta$ -carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. *Food Research International*, 49(1), 296-302
- Brisson, L. F., Tenhaken, R., y Lamb, C. (1994). Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *The Plant Cell*, 6(12), 1703-1712.
- Bristow, PR, McNicol, RJ y Williamson, B. (1986). Infección de flores de fresa por *Botrytis cinerea* y su relevancia para el desarrollo del moho gris. *Annals of Applied Biology* , 109 (3), 545-554.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., y Pfander, H. (2012). *Carotenoides: Handbook*. (Birkhauser, Ed.) Basilea, Suiza.
- Brummell, D. A. (2006). Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*, 33(2), 103-119.
- Bu, J., Yu, Y., Aisikaer, G., y Ying, T. (2013). Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of

- tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 337-345.
- Caminiti, C. A. (2015). Cultivo de frutillas en la provincia de Neuquén. Ediciones INTA.
- Cantos, E., Guerrero, R. F., Puertas, B., Jiménez, M. J., y Jurado, M. S. (2007). Tratamiento postcosecha de uva de vinificación con radiación UV-C para obtención de vinos enriquecidos en resveratrol. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 8(2), 112-120.
- Cantos, E., Espín, J. C., y Tomás-Barberán, F. A. (2002). Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6322-6329.
- Carpita, N. C., y Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3(1), 1-30.
- Carpita, N. C., y McCann, M. C. (2015). Characterizing visible and invisible cell wall mutant phenotypes. *Journal of Experimental Botany*, 66(14), 4145-4163.
- Castagna, A., Dall'Asta, C., Chiavaro, E. et al. Efecto de la irradiación postcosecha con UV-B sobre el perfil de polifenoles y la actividad antioxidante en la pulpa y la piel de los frutos del tomate. *Food Bioprocess Technol* 7, 2241–2250 (2014). <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1214-5>
- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., y Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.
- Cerezo, A., Cuevas, E., Winterhalter, P., Garcia-Parrilla, M., y Troncoso, A. (2010). Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry. *Food Chemistry*, 123(3), 574-582.
- Charles, M. T., Arul, J., Charlebois, D., Yaganza, E. S., Rolland, D., Roussel, D., y Merisier, M. J. (2016). Postharvest UV-C treatment of tomato fruits: changes in simple sugars and organic acids contents during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 557-564.
- Charles, M. T., Corcuff, R., Roussel, D., y Arul, J. (2003). Effect of maturity and storage conditions on rishitin accumulation and disease resistance to *Botrytis cinerea* in UV-C treated tomato fruit. *Acta Horticulturae*, 599, 573-576.
- Charles, M. T., Goulet, A., y Arul, J. (2008). Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: IV. Biochemical modification of structural barriers. *Postharvest Biology and Technology*, 47(1), 41-53.
- Chen, C., Hu, W., He, Y., Jiang, A., y Zhang, R. (2016). Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 126-131.
- Chen, J., Mao, L., Lu, W., Ying, T., y Luo, Z. (2016). Transcriptome profiling of postharvest strawberry fruit in response to exogenous auxin and abscisic acid. *Planta*, 243(1), 183-197.
- Chen, J., Mao, L., Mi, H., Lu, W., Ying, T., y Luo, Z. (2016). Involvement of three annexin genes in the ripening of strawberry fruit regulated by phytohormone and calcium signal transduction. *Plant Cell Reports*, 35(4), 733-743.
- Chen, X., Liu, B., Chen, Q., Liu, Y., y Duan, X. (2020). Application of combining ozone and UV-C sterilizations in the artificial drying of persimmon fruits. *LWT*, 134, 110205.

- Cisneros-Zevallos, L. (2003). Concise Reviews in Food Science-The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science*, 68(5), 1560-1567.
- Civello, P. M., Vicente, A. R. y Martínez, G. A. (2007). UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. In: Rosalba Troncoso-Rojas, Martín E. Tiznado-Hernández and Alberto González-León (Eds.), *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits y Vegetables*. Transworld Research Network, 37/661 (2), Fort P.O. Trivandrum 695 023, Kerala.
- Civello, P. M., Vicente, A. R., Martínez, G. A., (2006). UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables, in: Troncoso-Rojas, R., Tiznado-Hernandez, M.E., Gonzales-Leon, A. (Eds.), *Recent advances in alternative postharvest technologies to control fungal diseases in fruits and vegetables*, India, pp.1-32.
- Cömert, E. D., Mogol, B. A., y Gökmen, V. (2020). Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. *Current Research in Food Science*, 2, 1-10.
- Concellón, A., Añón, M.C., Chaves, A.R., (2007). Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). *LWT- Food Science and Technology*. 40, 389-396.
- Correa, M., Mera, S., Guacho, F., Villarreal, E., y Valencia, S. (2020). Desinfección mediante el uso de luz UV-C germicida en diferentes medios como estrategia preventiva ante la COVID-19. *Minerva*, 1(2), 46-53.
- Cosgrove, D. J. (2000). Loosening of plant cell walls by expansins. *Nature*, 407(6802), 321-326.
- Cote, S., Rodoni, L., Miceli, E., Concellón, A., Civello, P. M., y Vicente, A. R. (2013). Effect of radiation intensity on the outcome of postharvest UV-C treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 83, 83-89.
- Cushnie, TT y Lamb, AJ (2005). Actividad antimicrobiana de los flavonoides. *Revista internacional de agentes antimicrobianos*, 26 (5), 343-356.
- Darré, M., Valerga, L., Araque, L. C. O., Lemoine, M. L., Demkura, P. V., Vicente, A. R., y Concellón, A. (2017). Role of UV-B irradiation dose and intensity on color retention and antioxidant elicitation in broccoli florets (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Postharvest Biology and Technology*, 128, 76-82.
- De Corato, U. (2020). Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(6), 940-975.
- de Oliveira, I. R., Crizel, G. R., Severo, J., Renard, C. M., Chaves, F. C., y Rombaldi, C. V. (2016). Preharvest UV-C radiation influences physiological, biochemical, and transcriptional changes in strawberry cv. Camarosa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108, 391-399.
- Denoya, G. I., Colletti, A. C., y Polenta, G. A. (2020). Vegetales mínimamente procesados: frescos y saludables. SEPOMEX.
- do Nascimento Nunes, M. C., Nicometo, M., Emond, J. P., Melis, R. B., y Uysal, I. (2014). Improvement in fresh fruit and vegetable logistics quality: berry logistics field studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 372(2017), 20130307.

- Dong, C., Wang, L., Li, Q., y Shang, Q. (2020). Epiphytic and Endophytic Fungal Communities of Tomato Plants. *Horticultural Plant Journal*.
- Draye, M., y Van Cutsem, P. (2008). Pectin methylesterases induce an abrupt increase of acidic pectin during strawberry fruit ripening. *Journal of plant physiology*, 165(11), 1152-1160.
- Du, X., Plotto, A., Baldwin, E., y Rouseff, R. (2011). Evaluation of Volatiles from Two Subtropical Strawberry Cultivars Using GC-Olfactometry, GC-MS Odor Activity Values, and Sensory Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12569-12577.
- Duthie, G. G., Gardner, P. T., y Kyle, J. A. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet?. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(3), 599-603.
- El Ghaouth, A., Wilson, C. L., y Callahan, A. M. (2003). Induction of chitinase,  $\beta$ -1, 3-glucanase, and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. *Phytopathology*, 93(3), 349-355.
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., y Delen, N. (Eds.). (2004). *Botrytis: biology, pathology and control*. Springer Science y Business Media.
- EL-Hefny, M., Salem, M. Z., Behiry, S. I., y Ali, H. M. (2020). The potential antibacterial and antifungal activities of wood treated with *Withania somnifera* fruit extract, and the phenolic, caffeine, and flavonoid composition of the extract according to HPLC. *Processes*, 8(1), 113.
- El-Mogy, M. M., Ali, M. R., Darwish, O. S., y Rogers, H. J. (2019). Impact of salicylic acid, abscisic acid, and methyl jasmonate on postharvest quality and bioactive compounds of cultivated strawberry fruit. *Journal of Berry Research*, 9(2), 333-348.
- Erkan, M., Wang, S. Y., Wang, C. Y., (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*.48, 163-171.
- Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., y Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: a brief review. *European journal of pharmacology*, 807, 91-101.
- Fan, X., Huang, R., y Chen, H. (2017). Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends in Food Science y Technology*, 70, 9-19.
- FAO. (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 2018, de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>
- Figuerola, C. R., Opazo, M. C., Vera, P., Arriagada, O., Díaz, M., y Moya-León, M. A. (2012). Effect of postharvest treatment of calcium and auxin on cell wall composition and expression of cell wall-modifying genes in the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit. *Food Chemistry*, 132(4), 2014-2022.
- Flórez Faura RA, Mora Cabeza RA. 2010. Fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) Producción y Manejo Poscosecha, Corredor Tecnológico Agroindustrial, Cámara de Comercio de Bogotá, Universidad Nacional De Colombia; Bogotá.
- Forges, M., Bardin, M., Urban, L., Aarrouf, J., y Charles, F. (2020). Impact of UV-C radiation applied during plant growth on pre-and post-harvest disease sensitivity and fruit quality of strawberry. *Plant Disease*, (ja).
- Foyer, C. H., y Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia plantarum*, 119(3), 355-364.

- García Robles, Jesús., Rodríguez, Laura., Mercado, Jorge., Sañudo, Reginaldo. (2017). Evaluación de desinfectantes para el control de microorganismos en frutas y verduras. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 18, 9-16.
- Gardner, D.W., Shama, G., (2000). Modeling UV-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *J. Food Prot.* 63, 63–70.
- Gayán, E., Condón, S., y Álvarez, I. (2014). Biological aspects in food preservation by ultraviolet light: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 1-20.
- Georgiadou, E. C., Koubouris, G., Goulas, V., Sergentani, C., Nikoloudakis, N., Manganaris, G. A., ... y Fotopoulos, V. (2019). Genotype-dependent regulation of vitamin E biosynthesis in olive fruits as revealed through metabolic and transcriptional profiles. *Plant Biology*, 21(4), 604-614.
- Gétaz, M., Puławska, J., Smits, T. H., y Pothier, J. F. (2020). Host–pathogen interactions between *Xanthomonas fragariae* and its host *Fragaria* × *ananassa* investigated with a dual RNA-Seq analysis. *Microorganisms*, 8(8), 1253.
- Giacosa, S., Gabrielli, M., Torchio, F., Segade, S. R., Grobas, A. M. M., Aimonino, D. R., ... y Rolle, L. (2019). Relationships among electrolyzed water postharvest treatments on winegrapes and chloroanisoles occurrence in wine. *Food Research International*, 120, 235-243.
- Gierson, D., y Kader, A. A. (1986). Fruit ripening and quality. In *The tomato crop* (pp. 241-280). Springer, Dordrecht.
- Gigli-Bisceglia, N., Engelsdorf, T., y Hamann, T. (2020). Plant cell wall integrity maintenance in model plants and crop species-relevant cell wall components and underlying guiding principles. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(11), 2049-2077.
- Gigli-Bisceglia, N., Engelsdorf, T., y Hamann, T. (2020). Plant cell wall integrity maintenance in model plants and crop species-relevant cell wall components and underlying guiding principles. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(11), 2049-2077.
- Giné-Bordonaba, J., y Terry, L. A. (2016). Effect of deficit irrigation and methyl jasmonate application on the composition of strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit and leaves. *Scientia Horticulturae*, 199, 63-70.
- Giovannoni, J. (2001). Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annual Review of Plant Physiology*, 52, 725-729.
- Gomez, M. L. P., y Lajolo, F. M. (2008). Ascorbic acid metabolism in fruits: activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5), 756-762.
- Gonzalez-Aguilar, G. A., Villa-Rodriguez, J. A., Ayala-Zavala, J. F., y Yahia, E. M. (2010). Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends in Food Science y Technology*, 21(10), 475-482.
- González-Aguilar, G., Ayala-Zavala, J., Rivera-López, J., Zavaleta-Gatica, R., Villegas-Ochoa, M., y Tejedor-Espinoza, W. (2005). Mango, durazno y nectarina utilizando. *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, 3(1), 49-57. Retrieved from [http://www3.uacj.mx/DGDCDC/SP/Documents/Documents/ciencias%20de%20la%20frontera/VolIII\\_num1.pdf#page=49](http://www3.uacj.mx/DGDCDC/SP/Documents/Documents/ciencias%20de%20la%20frontera/VolIII_num1.pdf#page=49)

- González-Aguilar, G., Wang, C. Y., y Buta, G. J. (2004). UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 (5), 415-422.
- González-Aguilar, G., Zabaleta-Gatica, R., y Tiznado-Hernández, M. (2007). Improving postharvest quality of mango Haden by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 45(1), 108-116.
- González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A., y García-Villalba, R. (2020). Structural Diversity of Polyphenols and Distribution in Foods. *Dietary Polyphenols: Their Metabolism and Health Effects*, 1-29.
- Goulas, V., Vicente, A. R., y Manganaris, G. A. (2012). Structural diversity of anthocyanins in fruits. Nova Science Publishers, Inc.
- Graça, A., Santo, D., Pires-Cabral, P., y Quintas, C. (2020). The effect of UV-C and electrolyzed water on yeasts on fresh-cut apple at 4° C. *Journal of Food Engineering*, 110034.
- Griffith, O.W., (1980). Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry*. 106, 207–212.
- Gross, K. C., y Sams, C. E. (1984). Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochemistry*, 23(11), 2457-2461.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., ... y Prior, R. L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of nutrition*, 134(3), 613-617.
- Guan, Y., Hu, W., Jiang, A., Xu, Y., Zhao, M., Yu, J., ... y Feng, K. (2020). The effect of cutting style on the biosynthesis of phenolics and cellular antioxidant capacity in wounded broccoli. *Food Research International*, 137, 109565.
- Guerrero, C. M., Cuvi, M. J. A., Concellón, A., y Navarrete, G. D. (2013). Estudio de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de naranjilla (*Solanum quitoense*) tratada con radiación UV-C. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2), 125-132.
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innovative food science y emerging technologies*, 11(1), 210-218.
- Ha, H. L., Shin, H. J., Feitelson, M. A., y Yu, D. Y. (2010). Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(48), 6035.
- Hadfield, K. A., y Bennett, A. B. (1998). Polygalacturonases: many genes in search of a function. *Plant physiology*, 117(2), 337-343.
- Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of neurochemistry*, 59(5), 1609-1623.
- Han, Y., Chen, C., Yan, Z., Li, J., y Wang, Y. (2019). The methyl jasmonate accelerates the strawberry fruits ripening process. *Scientia Horticulturae*, 249, 250-256.
- Haskell, M. J. (2013). Provitamin A carotenoids as a dietary source of vitamin A. In *Carotenoids and human health* (pp. 249-260). Humana Press, Totowa, NJ.
- Hassan, A. B., Al Maiman, S. A., Elkhatim, K. A. S., Elbadr, N. A., Alsulaim, S., Osman, M. A., y Ahmed, I. A. M. (2020). Effect of UV-C radiation treatment on microbial load and antioxidant capacity in hot pepper, fennel and coriander. *LWT*, 134, 109946.

- He, J., Yue, X., Wang, R., y Zhang, Y. (2011). Ethylene mediates UV-B-induced stomatal closure via peroxidase-dependent hydrogen peroxide synthesis in *Vicia faba* L. *Journal of Experimental Botany*, 62(8), 2657-2666.
- Hiza, H.A.B. and L. Bente. 2007. Nutrient content of the U.S. food supply, 1909-2004: A summary report. Home Economics Research Report Number 57. U.S. Department of Agriculture, Center for Nutrition Policy and Promotion, Washington, DC.
- Hoffman, M., Jia, Z., Peña, M. J., Cash, M., Harper, A., Blackburn II, A. R., ... y York, W. S. (2005). Structural analysis of xyloglucans in the primary cell walls of plants in the subclass Asteridae. *Carbohydrate research*, 340(11), 1826-1840.
- Höfte, H. y Voxeur, A. (2017). Paredes celulares vegetales. *Biología actual*, 27 (17), R865-R870.
- Honda, M. (2020). Nutraceutical and Pharmaceutical Applications of Carotenoids. *Pigments from Microalgae Handbook*, 449-469.
- Honda, M., Kageyama, H., Hibino, T., Ichihashi, K., Takada, W., y Goto, M. (2020). Isomerization of commercially important carotenoids (lycopene,  $\beta$ -carotene, and astaxanthin) by natural catalysts: Isothiocyanates and polysulfides. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(10), 3228-3237.
- Hummer, K. E., y Hancock, J. (2009). Strawberry Genomics: Botanical History. In K. M. Folta, *Genetics and genomics of Rosaceae. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models (Vol. 5, p. 413)*. New York, NY: Springer.
- Jacobo-Velázquez, D. A., González-Agüero, M., Cisneros-Zevallos, L. (2015). Cross-talk between signaling pathways: the link between plant secondary metabolite production and wounding stress response. *Scientific reports*, 5, 8608.
- Jacobo-Velázquez, D. A., Santana-Gálvez, J., y Cisneros-Zevallos, L. (2020). Designing next-generation functional food and beverages: Combining nonthermal processing technologies and postharvest abiotic stresses. *Food Engineering Reviews*, 1-9.
- James, J. B., Ngarmsak, T., y Rolle, R. S. (2010). Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A technical guide. RAP Publication (FAO) eng no. 2010/16.
- Janda, T., Szalai, G., y Pál, M. (2020). Salicylic Acid Signalling in Plants.
- Janisiewicz, W. J., Takeda, F., Glenn, D. M., Camp, M. J., y Jurick, W. M. (2016). Dark period following UV-C treatment enhances killing of *Botrytis cinerea* conidia and controls gray mold of strawberries. *Phytopathology*, 106(4), 386-394.
- Jansen, M. A. K., B. L. Martret and M. Koornneef. (2010). Variations in constitutive and inducible UV-B tolerance; dissecting photosystem II protection in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Physiol. Plant.* 138:22–34.
- Ji, Y., Hu, W., Liao, J., Jiang, A., Xiu, Z., Gaowa, S., ... y Liu, C. (2020). Effect of atmospheric cold plasma treatment on antioxidant activities and reactive oxygen species production in postharvest blueberries during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15), 5586-5595.
- Jiang, Y., y Joyce, D. C. (2003). ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulation*, 39(2), 171-174.
- Jimenez-Garcia, S. N., Guevara-Gonzalez, R. G., Miranda-Lopez, R., Feregrino-Perez, A. A., Torres-Pacheco, I., y Vazquez-Cruz, M. A. (2013). Functional properties and quality

- characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*, 54(1), 1195-1207.
- Jordheim, M., Giske, N. H., y Andersen, Ø. M. (2007). Anthocyanins in caprifoliaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(3), 153-159.
- Kader, A. (2007). *Biología y Tecnología Postcosecha: un Panorama*. In K. A., *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. Tercera Edición.
- Kader, A. A. (2002). *Postharvest Biology and Technology: An Overview*. En A. A. Kader, *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (págs. 39-47). Richmond: University of California Agriculture and Natural Resources.
- Kader, A., y Rolle, R. (2004). The role of post-harvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce. *FAO AGRICULTURAL SERVICES BULLETIN* 152. Roma, Italia. Retrieved Octubre 20, 2019, from *FAO AGRICULTURAL SERVICES BULLETIN*: <http://www.fao.org/3/y5431e/y5431e00.htm>
- Kallio, H., Hakala, M., Pelkkikangas, A.-M., y Lapvetelainen, A. (2000). Sugars and acids of strawberry varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 212, 81-85.
- Kang, C. H., Yoon, E. K., Muthusamy, M., Kim, J. A., Jeong, M. J., y Lee, S. I. (2020). Blue LED light irradiation enhances L-ascorbic acid content while reducing reactive oxygen species accumulation in Chinese cabbage seedlings. *Scientia Horticulturae*, 261, 108924.
- Karaca, H., y 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*, 109421.
- Kaushal, M., DevinaVaidya, A. G., y Thakur, M. (2020). Optimization of process protocol for the development of anthocyanin enriched ginger candy. *Optimization*, 21, 22.
- Khalid, M., Bilal, M., Iqbal, H. M., y Huang, D. (2019). Biosynthesis and biomedical perspectives of carotenoids with special reference to human health-related applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 399-407.
- Khoo, H. E., Prasad, K. N., Kong, K. W., Jiang, Y., y Ismail, A. (2011). Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*, 16(2), 1710-1738.
- Kirschbaum, D., Sordo, M., Adlercreutz, E., Delmazzo, P., Pacheco, R., y Misrendino, E. (2017). Panorama del cultivo de Frutilla en junio de 2017. *BOLETÍN DE FRUTAS Y HORTALIZAS DEL CONVENIO INTA-CMCBA*.
- Koike, S., y Bolda, M. (2016). *El moho gris, o Pudrición de fresa*. California: Cooperative Extensión.
- Konić-Ristić, A., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., Juranic, Z., Menković, N., y Stanković, I. (2011). Biological activity and chemical composition of different berry juices. *Food Chemistry*, 125(4), 1412-1417.
- Kosar, M., Kafkas, E., Paydas, S., y Baser, K. H. C. (2004). Phenolic composition of strawberry genotypes at different maturation stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1586-1589.
- Kumar, M., Campbell, L., y Turner, S. (2016). Secondary cell walls: biosynthesis and manipulation. *Journal of experimental botany*, 67(2), 515-531.
- Kumar, S., Chang, Y. C., Lai, K. H., y Hwang, T. L. (2020). Resveratrol, a Molecule with Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Activities: Natural Product to Chemical Synthesis. *Current Medicinal Chemistry*.

- Kuźniak, E. y Skłodowska, M. (2001). Ascorbato, glutatión y enzimas relacionadas en cloroplastos de hojas de tomate infectadas por *Botrytis cinerea*. *Plant Science*, 160 (4), 723-731.
- Labadie, M., Vallin, G., Petit, A., Ring, L., Hoffmann, T., Gaston, A., ... y Denoyes, B. (2020). Metabolite Quantitative Trait Loci for flavonoids provide new insights into the genetic architecture of strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Lagunes-Fortiz, E., y Zavaleta-Mejía, E.. (2016). Función de la lignina en la interacción planta-nematodos endoparásitos sedentarios. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(1), 43-63.
- Lamikanra, O., Kueneman, D., Ukuku, D., y Bett-Garber, K. L. (2005). Effect of processing under ultraviolet light on the shelf life of fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 70(9), C534-C539.
- Langcake, P., y Pryce, R. J. (1977). A new class of phytoalexins from grapevines. *Experientia*, 33(2), 151-152.
- Langer, S. E., Oviedo, N. C., Marina, M., Burgos, J. L., Martínez, G. A., Civello, P. M., y Villarreal, N. M. (2018). Effects of heat treatment on enzyme activity and expression of key genes controlling cell wall remodeling in strawberry fruit. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, 334-344.
- Lara, M. V., Bonghi, C., Famiani, F., Vizzotto, G., Walker, R. P., y Drincovich, M. F. (2020). Stone fruit as biofactories of phytochemicals with potential roles in human nutrition and health. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1323.
- Lavin, A., y Mauriera, M. (2000). La frutilla chilena de fruto blanco: Proyecto de desarrollo de las comunas pobres de la zona de secano (PRODECOP-SECANO). Cauquenes, Chile: Ministerio de Agricultura, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Experimental Cauquenes.
- Le Marchand, L. (2002). Cancer preventive effects of flavonoids—a review. *Biomedicine y pharmacotherapy*, 56(6), 296-301.
- Lee, S. K., y Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest biology and technology*, 20(3), 207-220.
- Lemoine, M. L., Civello, P. M., Martínez, G. A., y Chaves, A. R. (2007). Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 1132-1139.
- Leong, S. Y., y Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food chemistry*, 133(4), 1577-1587.
- Li, C., y Kader, A. A. (1989). Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*.
- Li, C., y Kader, A. A. (1989). Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114(4), 629-634.
- Li, D., Luo, Z., Mou, W., Wang, Y., Ying, T., y Mao, L. (2014). ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, 90, 56-62.

- Li, H., Han, M., Yu, L., Wang, S., Zhang, J., Tian, J., y Yao, Y. (2020). Transcriptome analysis identifies two ethylene response factors that regulate proanthocyanidin biosynthesis during *Malus Crabapple* fruit development. *Frontiers in plant science*, 11, 76.
- Li, M., Li, X., Han, C., Ji, N., Jin, P., y Zheng, Y. (2019). UV-C treatment maintains quality and enhances antioxidant capacity of fresh-cut strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110945.
- Li, M., Li, X., Li, J., Ji, Y., Han, C., Jin, P., y Zheng, Y. (2018). Responses of fresh-cut strawberries to ethanol vapor pretreatment: improved quality maintenance and associated antioxidant metabolism in gene expression and enzyme activity levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(31), 8382-8390.
- Li, M., Ma, F., Shang, P., Zhang, M., Hou, C., y Liang, D. (2009). Influence of light on ascorbate formation and metabolism in apple fruits. *Planta*, 230(1), 39-51.
- Li, X., Li, M., Ji, N., Jin, P., Zhang, J., Zheng, Y., ... y Li, F. (2019). Cold plasma treatment induces phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in fresh-cut pitaya (*Hylocereus undatus*) fruit. *LWT*, 115, 108447.
- Li, X., Long, Q., Gao, F., Han, C., Jin, P., y Zheng, Y. (2017). Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 124, 1-7.
- Li, S., Tao, Y., Zhan, XM, Dao, GH y Hu, HY (2020). Irradiación UV-C para el control de la proliferación de algas nocivas: revisión de la literatura sobre efectividad, mecanismos, factores de influencia e instalaciones. *Ciencia del medio ambiente total* , 723 , 137986.
- Liu, C., Cai, L., Han, X., y Ying, T. (2011). Temporary effect of postharvest UV-C irradiation on gene expression profile in tomato fruit. *Gene*, 486(1-2), 56-64.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y., Wilson, C. L., Adeyeye, O., Droby, S. (1993). Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*, 56(10), 868-873.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Adeyeye, O., Kabwe,M., Pusey, P.L., Chalutz, E., Sultana, T., Droby, S., (1993). Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*. 56, 868-872.
- Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219.
- Liu, X., Ji, D., Cui, X., Zhang, Z., Li, B., Xu, Y., ... y Tian, S. (2020). p-Coumaric acid induces antioxidant capacity and defense responses of sweet cherry fruit to fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111297.
- López, G. A. R., Qüesta, A. G., y Rodriguez, S. D. C. (2010). Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1), 101-108.
- Lopez-Malo, A., Palou, E., Jiménez-Fernández, M., Alzamora, S. M., y Guerrero, S. (2005). Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Journal of food engineering*, 67(1-2), 87-93.
- Luksiene, Z., y Buchovec, I. (2019). Impact of chlorophyllin-chitosan coating and visible light on the microbial contamination, shelf life, nutritional and visual quality of strawberries. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 52, 463-472.

- Lyu, L., Bi, Y., Li, S., Xue, H., Zhang, Z., y Prusky, D. B. (2019). Early Defense Responses Involved in Mitochondrial Energy Metabolism and Reactive Oxygen Species Accumulation in Harvested Muskmelons Infected by *Trichothecium roseum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(15), 4337-4345.
- Ma, L., Zhang, M., Bhandari, B., y Gao, Z. (2017). Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends in Food Science y Technology*, 64, 23-38.
- Ma, M., Wang, P., Yang, R., Zhou, T., y Gu, Z. (2019). UV-B mediates isoflavone accumulation and oxidative-antioxidant system responses in germinating soybean. *Food chemistry*, 275, 628-636.
- Maas, J. L., Galletta, G. J., y Ellis, M. A. (1989, June). Cane canker diseases of thornless blackberry in Eastern United States. In V International Symposium on Rubus and Ribes 262 (pp. 205-208).
- Mahalik, N. P., y Nambiar, A. N. (2010). Trends in food packaging and manufacturing systems and technology. *Trends in food science y technology*, 21(3), 117-128.
- Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P., (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*. 15, 13–23.
- Maharaj, R., Arul, J., yNadeau, P. (2014). UV-C irradiation effects on levels of enzymic and non-enzymic phytochemicals in tomato. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 21, 99-106.
- Mäkinen, K. K., y Söderling, E. (1980). A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol and xylose in wild strawberries and commercial fruits. *Journal of Food Science*, 45(2), 367-371.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., y Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Manganaris, G. A., Goulas, V., Mellidou, I., y Drogoudi, P. (2018). Antioxidant phytochemicals in fresh produce: exploitation of genotype variation and advancements in analytical protocols. *Frontiers in chemistry*, 5, 95.
- Manning, K. (1993). Soft fruit. En G. B. Seymour, J. E. Taylor , y G. A. Tucker , *Biochemistry of Fruit Ripening* (págs. 347-377). Dordrecht: Springer.
- Manzo, N., Santini, A., Pizzolongo, F., Aiello, A., y Romano, R. (2019). Degradation kinetic (D100) of lycopene during the thermal treatment of concentrated tomato paste. *Natural product research*, 33(13), 1835-1841.
- Manzocco, L., Da Pieve, S., Bertolini, A., Bartolomeoli, I., Maifreni, M., Vianello, A., yNicoli, M. C. (2011). Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2-3), 165-171.
- Manzocco, L., Da Pieve, S., yMaifreni, M. (2011). Impact of UV-C light on safety and quality of fresh-cut melon. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 12(1), 13-17.
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of natural medicines*, 1-16.
- Marinova, D., y Ribarova, F. (2007). HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of food composition and analysis*, 20, 370-374.

- Marlett, J. A. (1994). Dietary fiber content and composition of fruits. *Food Chemistry*, 5, 39-44.
- Marquenie, D., Michiels, C., Geeraerd, A., Schenk, A., Soontjens, C., Van Impe, J., y Nicola, B. (2002). Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 187-196.
- Marquenie, D., Michiels, C.W., Geeraerd, A.H., Schenk, A., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M., (2002). Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *International Journal of Food Microbiology*. 73, 187–196.
- Marshall, J. G., Dumbroff, E. B., Thatcher, B. J., Martin, B., Rutledge, R. G., y Blumwald, E. (1999). Synthesis and oxidative insolubilization of cell-wall proteins during osmotic stress. *Planta*, 208(3), 401-408.
- Martin, C., Zhang, Y., Tonelli, C., Petroni, K. (2013). Plants, diet, and health. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 19-46.
- Martínez-Hernández, G. B., Blanco, V., Blaya-Ros, P. J., Torres-Sánchez, R., Domingo, R., y Artés-Hernández, F. (2020). Effects of UV–C on bioactive compounds and quality changes during shelf life of sweet cherry grown under conventional or regulated deficit irrigation. *Scientia Horticulturae*, 269, 109398.
- Martínez-Sánchez, A., Guirao-Martínez, J., Martínez, J. A., Lozano-Pastor, P., y Aguayo, E. (2019). Inducing fungal resistance of spinach treated with pre harvest hormetic doses of UV-C. *LWT*, 113, 108302.
- Martinsen, B. K., Aaby, K., y Skrede, G. (2020). Effect of temperature on stability of anthocyanins, ascorbic acid and color in strawberry and raspberry jams. *Food Chemistry*, 316, 126297.
- Mattila, P., Hellström, J., y Törrönen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(19), 7193-7199.
- Mazza, G., y Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*. Boca Raton, Estados Unidos: CRC Press.
- McMillin, K. W. (2020). Modified Atmosphere Packaging. In *Food Safety Engineering* (pp. 693-718). Springer, Cham.
- Mditshwa, A., Magwaza, LS, Tesfay, SZ y Mbili, NC (2017). Efecto de la irradiación ultravioleta en la calidad y composición poscosecha de tomates: una revisión. *Revista de ciencia y tecnología de los alimentos*, 54 (10), 3025-3035.
- Mehmood, T., Afzal, A., Anwar, F., Memon, N., Memon, A. A., y Qadir, R. (2020). Variation in phenolic acids and antibacterial attributes of peel extracts from ripe and unripe [*Citrus limon* (L.) Osbeck] fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-8.
- Ménager, I., Jost, M., y Aubert, C. (2004). Changes in physicochemical characteristics and volatile constituents of strawberry (Cv. Cigaline) during maturation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(5), 1248-1254.
- Mercier J, J Arul, C Julien C (1993) Effect of UV-C on phytoalexin accumulation and resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots. *Journal Phytopathology*. 139:17-35
- Mercier, J., Baka, M., Reddy, B., Corcuff, R., y Arul, J. (2001). Shortwave ultraviolet irradiation for control of decay caused by *Botrytis cinerea* in bell pepper: induced resistance and

- germicidal effects. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(1), 128-133.
- Mhamdi, A., Hager, J., Chaouch, S., Queval, G., Han, Y., Taconnat, L., ... y Noctor, G. (2010). Arabidopsis GLUTATHIONE REDUCTASE1 plays a crucial role in leaf responses to intracellular hydrogen peroxide and in ensuring appropriate gene expression through both salicylic acid and jasmonic acid signaling pathways. *Plant physiology*, 153(3), 1144-1160.
- Mishra, A. K., Choi, S. J., y Baek, K. H. (2020). Application of ultraviolet c irradiation for the increased production of secondary metabolites in plants. *J. Anim. Plant Sci*, 30, 1082-1091.
- Mitcham, E. (2007). Quality of berries associated with preharvest and postharvest conditions. *Food Science and Technology*, Ed Marcel Dekker New York. 168, 207.
- Mitcham, E., Crisosto, C., y Kader, A. (2002). Recomendaciones para Matener la Calidad Postcosecha. Retrieved 2018, from [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Fruit\\_Spanish/?uid=18yds=802](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_Spanish/?uid=18yds=802)
- Mitchell, F., Mitcham, E., Thompson, J., y Welch, N. (1996). Handling strawberries for fresh market. Berkeley, California, Estados Unidos: University of California Agriculture and Natural Resources.
- Mitchell, S. J., Gray, J., Morgan, M. E. I., Hocking, M. D., y Durbin, G. M. (1996). Nosocomial infection with *Rhizopus microsporus* in preterm infants: association with wooden tongue depressors. *The Lancet*, 348(9025), 441-443.
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in plant science*, 22(1), 11-19.
- Molina-Hidalgo, F. J., Franco, A. R., Villatoro, C., Medina-Puche, L., Mercado, J. A., Hidalgo, M. A., ... y Blanco-Portales, R. (2013). The strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) fruit-specific rhamnogalacturonate lyase 1 (FaRGLyase1) gene encodes an enzyme involved in the degradation of cell-wall middle lamellae. *Journal of Experimental Botany*, 64(6), 1471-1483.
- Morales, L. O., Tegelberg, R., Brosché, M., Keinänen, M., Lindfors, A., y Aphalo, P. J. (2010). Effects of solar UV-A and UV-B radiation on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves. *Tree Physiology*, 30(7), 923-934.
- Morales A., Carmen Gloria, Riquelme S., Jorge, Pedreros L., Alberto, Uribe C., Hamil, Hirzel C., Juan, France I., Andres y Abarca R., Patricio (2017). Manual de manejo agronómico de la Frutilla [en línea]. Chilla: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias .
- Morales-Sillero, A., Lodolini, E. M., Suárez, M. P., Navarrete, V., Jiménez, M. D. R., Casanova, L., ... y Martín-Vertedor, D. (2020). Calcium applications throughout fruit development enhance olive quality, oil yield and antioxidant compounds' content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Moreno-Guerrero, Cuvi, MJA, Concellón, A. y Navarrete, GD (2013). estudio de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de naranjilla (*Solanum quitoense*) tratada con radiación UV-C. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14 (2), 125-132.
- Moreno, C., Andrade-Cuvi, M. J., Zaro, M. J., Darre, M., Vicente, A. R., y Concellón, A. (2017). Short UV-C treatment prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut carambola. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Muley, A. B., and Singhal, R. S. (2020). Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chemistry*, 127213.

- Narsaiah, K., Wilson, R. A., Gokul, K., Mandge, H. M., Jha, S. N., Bhadwal, S. y Vij, S. (2015). Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 100, 212-218.
- Nayak, S. L., Sethi, S., Sharma, R. R., Sharma, R. M., Singh, S., y Singh, D. (2020). Aqueous ozone controls decay and maintains quality attributes of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 319-326.
- Neves-Petersen, M. T., Gajula, G. P., y Petersen, S. B. (2012). UV light effects on proteins: from photochemistry to nanomedicine. *Molecular photochemistry-various aspects*, 125-158.
- Nguyen, V. T., Nguyen, D. H., y Nguyen, H. V. (2020). Combination effects of calcium chloride and nano-chitosan on the postharvest quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, 162, 111103.
- Nhung, L. T., Nagata, H., Takahashi, A., Aihara, M., Okamoto, T., Shimohata, T., Haraguchi, M. (2012). Sterilization effect of UV light on *Bacillus* spores using TiO<sub>2</sub> films depends on wavelength. *The Journal of Medical Investigation*, 59(1-2), 53-58.
- Niazi, A. R., Ghanbari, F., y Erfani-Moghadam, J. (2020). Simultaneous effects of hot water treatment with calcium and salicylic acid on shelf life and qualitative characteristics of strawberry during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15005.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lattanzio, V., Di Venere, D., and Salerno, M. (2000). Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *Journal of Plant Pathology*, 29-37.
- Nile, S. H., y Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2), 134-144.
- Niles, R. M., McFarland, M., Weimer, M. B., Redkar, A., Fu, Y. M., y Meadows, G. G. (2003). Resveratrol is a potent inducer of apoptosis in human melanoma cells. *Cancer letters*, 190(2), 157-163.
- Nimitkeatkai, H., y Kulthip, J. (2016). Effect of sequential UV-C irradiation on microbial reduction and quality of fresh-cut dragon fruit. *International Food Research Journal*, 23(4), 1818.
- Nunes, M. C. N., Brecht, J. K., Morais, A. M., y Sargent, S. A. (2006). Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with those that occur in harvested fruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2), 180-190.
- O'Neill, M. A., Black, I., Urbanowicz, B., Bharadwaj, V., Crowley, M., Koj, S., y Peña, M. J. (2020). Locating Methyl-Etherified and Methyl-Esterified Uronic Acids in the Plant Cell Wall Pectic Polysaccharide Rhamnogalacturonan II. *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation*, 25(4), 329-344.
- Olías, J. M., Sanz, C., y Pérez, A. G. (1998). Postcosecha de la fresa de Huelva. Principios básicos y tecnología. Instituto de la Grasa. CSIC. Sevilla. España. Pág. 48-51.
- Olivas, G. I., Mattinson, D. S., y Barbosa-Cánovas, G. V. (2007). Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Postharvest Biology and technology*, 45(1), 89-96.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest biology and Technology*, 50(1), 87-94.

- Ortiz Araque, L. C., Ortiz, C. M., Darré, M., Rodoni, L. M., Civello, P. M., Vicente, A. R., (2019). Role of UV-C irradiation scheme on cell wall disassembly and surface mechanical properties in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*.150, 122-128.
- Ortiz Araque, L. C., Rodoni, L. M., Darré, M., Ortiz, C. M., Civello, P. M., Vicente, A. R., (2018). Cyclic low dose UV-C treatments retain strawberry fruit quality more effectively than conventional pre-storage single high fluence applications. *LWT-FoodSci. Technol.*92, 304-311.
- Pan, J., Vicente, A. R., Martínez, G. A., Chaves, A. R., Civello, P. M., (2004). Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.84, 1831-1838.
- Paniagua, C., Blanco-Portales, R., Barceló-Muñoz, M., García-Gago, J. A., Waldron, K. W., Quesada, M. A., ... y Mercado, J. A. (2016). Antisense down-regulation of the strawberry  $\beta$ -galactosidase gene Fa $\beta$ Gal4 increases cell wall galactose levels and reduces fruit softening. *Journal of experimental botany*, 67(3), 619-631.
- Paniagua, C., Posé, S., Morris, V. J., Kirby, A. R., Quesada, M. A., y Mercado, J. A. (2014). Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of botany*, 114(6), 1375-1383.
- Paniagua C., Ric-Varas V., García-Gago J., López-Casado G., Blanco-Portales R., Muñoz-Blanco J., Schückel J., Knox J.P., Matas A. J., Quesada M. A, Posé S., Mercado J. A., Elucidar el papel de los genes de poligalacturonasa en el ablandamiento de la fruta de fresa, *Journal of Experimental Botany* , Volumen 71, Número 22, 31 de diciembre de 2020, Páginas 7103–7117
- Panou, A. A., Karabagias, I. K., y Riganakos, K. A. (2020). Effect of gamma-irradiation on sensory characteristics, physicochemical parameters, and shelf life of strawberries stored under refrigeration. *International Journal of Fruit Science*, 20 (2), 191-206.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., y Diamantidis, G. R. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food chemistry*, 102(3), 777-783.
- Parzanese, M. (2012). Vegetales mínimamente procesados. *Alimentos Argentinos*, 55, 31-39.
- Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., y Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 10 (3), 308-313.
- Patriarca, A. (2019). Fungi and mycotoxin problems in the apple industry. *Current Opinion in Food Science*, 29, 42-47.
- Paulus, A. O. (1990). Fungal diseases of strawberry. *HortScience*, 25(8), 885-889.
- Pauly, M., Albersheim, P., Darvill, A., y York, W. S. (1999). Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants. *The Plant Journal*, 20(6), 629-639.
- Pech, J.-C., Purgatto, E., Bouzayen, M., y Latché, A. (2018). Ethylene and Fruit Ripening. (M. T. McManus, Ed.) *Annual Plant Reviews*, 44, 275-304.
- Pérez-Llorca, M., Muñoz, P., Müller, M., y Munné-Bosch, S. (2019). Biosynthesis, metabolism and function of auxin, salicylic acid and melatonin in climacteric and non-climacteric fruits. *Frontiers in plant science*, 10, 136.

- Perkins-Veazie, P. (1995). Growth and ripening of strawberry fruit. *Horticultural reviews*, 17, 267-297.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J. K., y Howard, L. (2008). Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 280-285.
- Pretell Guarniz, K. N. (2019). Efecto de la dosis de irradiación uv-c y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y aceptabilidad general en aguaymanto (*hysalis peruviana L.*). Tesis
- Petrasch, S., Silva, C. J., Mesquida-Pesci, S. D., Gallegos, K., van den Abeele, C., Papin, V., y Blanco-Ulate, B. (2019). Infection strategies deployed by *Botrytis cinerea*, *Fusarium acuminatum*, and *Rhizopus stolonifer* as a function of tomato fruit ripening stage. *Frontiers in Plant Science*, 10, 223.
- Pierce B A (2006), Mutaciones génicas y reparación del DNA. Pp. 473-508. En: Pierce B A, Genética. Un enfoque conceptual, Segunda Edición, Editorial Médica Panamericana, 816 p.
- Pinto, E. P., Perin, E. C., Schott, I. B., da Silva Rodrigues, R., Lucchetta, L., Manfroi, V., y Rombaldi, C. V. (2016). The effect of postharvest application of UV-C radiation on the phenolic compounds of conventional and organic grapes (*Vitis labrusca cv. 'Concord'*). *Postharvest Biology and Technology*, 120, 84-91.
- Pombo, M. A., Dotto, M. C., Martínez, G. A., y Civello, P. M. (2009). UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology*, 51(2), 141-148.
- Pombo, M. A., Rosli, H. G., Martínez, G. A., Civello, P. M., (2011). UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria × ananassa*, Duch.). *Postharvest Biology and Technology*.59, 94-102.
- Pongprase, N., Sekozawa, Y., Sugaya, S., y Gemma, H. (2011). A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage, browning and chlorophyll degradation) in banana peel. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 73-77.
- Popper, Z. A., y Fry, S. C. (2005). Widespread occurrence of a covalent linkage between xyloglucan and acidic polysaccharides in suspension-cultured angiosperm cells. *Annals of botany*, 96(1), 91-99.
- Pinto, EP, Perin, EC, Schott, IB, da Silva Rodrigues, R., Lucchetta, L., Manfroi, V. y Rombaldi, CV (2016). El efecto de la aplicación poscosecha de radiación UV-C sobre los compuestos fenólicos de uvas convencionales y orgánicas (*Vitis labrusca cv. 'Concord'*). *Biología y tecnología poscosecha*, 120 , 84-91.
- Posé, S., García-Gago, J. A., Santiago-Doménech, N., Pliego-Alfaro, F., Quesada, M. A., y Mercado, J. A. (2011). Strawberry fruit softening: role of cell wall disassembly and its manipulation in transgenic plants. *Genes, Genomes and Genomics*, 5(1), 40-48.
- Posé, S., Kirby, A. R., Paniagua, C., Waldron, K. W., Morris, V. J., Quesada, M. A., y Mercado, J. A. (2015). The nanostructural characterization of strawberry pectins in pectate lyase or polygalacturonase silenced fruits elucidates their role in softening. *Carbohydrate polymers*, 132, 134-145.
- Posé, S., Marcus, S. E., y Knox, J. P. (2018). Differential metabolism of pectic galactan in tomato and strawberry fruit: Detection of the LM26 branched galactan epitope in ripe strawberry fruit. *Physiologia plantarum*, 164(1), 95-105.

- Pott, D., de Abreu e Lima, F., Willmitzer, L., Fernie, A., Nikoloski, Z., Osorio, S., y Vallarino, J. G. (2019). Metabolite profiling of postharvest senescence in different strawberry cultivars. *321*, 126747.
- Price, M. Y., y Preedy, V. R. (2020). Reference dietary requirements of vitamins in different stages of life. *Molecular Nutrition*, 3-32.
- Priyadarshani, A. M. B., y Jansz, E. R. (2014). A critical review on carotenoid research in Sri Lankan context and its outcomes. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(5), 561-571.
- Pulissery, S. K., Boregowda, S. K., Suseela, S., y Jaganath, B. (2020). A comparative study on the textural and nutritional profile of high pressure and minimally processed pineapple. *Journal of Food Science and Technology*, 1-9.
- Qi, H., Hu, W., Jiang, A., Tian, M., y Li, Y. (2011). Extending shelf-life of fresh-cut 'Fuji' apples with chitosan-coatings. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 12(1), 62-66.
- Quesada, M. A., Blanco-Portales, R., Posé, S., García-Gago, J. A., Jiménez-Bermúdez, S., Muñoz-Serrano, A., ... y Muñoz-Blanco, J. (2009). Antisense down-regulation of the FaPG1 gene reveals an unexpected central role for polygalacturonase in strawberry fruit softening. *Plant Physiology*, 150(2), 1022-1032.
- Ragaert, P., Jacxsens, L., Vandekinderen, I., Baert, L., y Devlieghere, F. (2011). Microbiological and safety aspects of fresh-cut fruits and vegetables (pp. 53-75). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Rashmi, H. B., y Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, 109298.
- Reddy, SVR, Sharma, RR y Gundewadi, G. (2018). Uso de la irradiación para la desinfección poscosecha de frutas y hortalizas. En *Desinfección poscosecha de frutas y verduras* (págs. 121-136). Prensa académica.
- Reis, L., Forney, C. F., Jordan, M., Munro Pennell, K., Fillmore, S., Schemberger, M. O., y Ayub, R. A. (2020). Metabolic profile of strawberry fruit ripened on the plant following treatment with an ethylene elicitor or inhibitor. *Frontiers in Plant Science*, 11, 995.
- Rekika, D., Khanizadeh, S., Deschenes, M., Levasseur, A., Charles, T., y Tsao, R. (2005). Antioxidant capacity and phenolic content of selected strawberry genotypes. *Hortscience*, 40, 1777-81.
- Revista alimentos argentinos. [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/Revista/AA\\_73.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/Revista/AA_73.pdf).
- Revista alimentos argentinos. Vegetales mínimamente procesados. [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55\\_vegetales.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55_vegetales.pdf).
- Riaz, A., Aadil, R. M., Amoussa, A. M. O., Bashari, M., Abid, M., y Hashim, M. M. (2020). Application of chitosan-based apple peel polyphenols edible coating on the preservation of strawberry (*Fragaria ananassa* cv Hongyan) fruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15018.
- Rice-Evans, C., Miller, N., y Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
- Rivera-Pastrana, Dulce M., y Gardea Béjar, Alfonso A., y Martínez-Téllez, Miguel Á., Y Rivera-Domínguez, Marisela y González-Aguilar, Gustavo A. (2007). Efectos bioquímicos

- postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (4), 361-372. [Fecha de Consulta 9 de Junio de 2021]. ISSN: 0187-7380. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030403>
- Rivera, DM., Béjar AAG., Martínez-Tellez, M., Rivera-Dominguez, M., y González-Aguilar., (2007). Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 361-372.
- Rodoni (2015). Evaluación de metodologías no contaminantes para mantener la calidad y extender la vida poscosecha de pimientos (*Capsicum annuum* L.) frescos cortados. Tesis doctoral. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/35189>.
- Rodoni, L. M., Concellón, A., Chaves, A. R., y Vicente, A. R. (2012). Use of UV-C treatments to maintain quality and extend the shelf life of green fresh-cut bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 77 (6), C632-C639.
- Rodoni, L. M., Massolo, J. F., y Vicente, A. R. (2017). Evaluation of different physical treatments in minimally processed green and red pepper *Capsicum annuum* L. *Enfoque UTE*, 8(2), 33-43.
- Rodrigo, D., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2007). Combined thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. *Journal of Food Engineering*, 79(2), 553-560.
- Rodríguez Silvia Del Carmen.; Gutiérrez, Diego R., y Sgroppo Sonia C. (2015). productos vegetales de iv gama. aspectos generales. Fresh-cut vegetables general features. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/72766/CONICET\\_Digital\\_Nro.dc396a15-1131-4bdb-b44e-109b2ebbaeff\\_A-p%C3%A1ginas-6-17.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/72766/CONICET_Digital_Nro.dc396a15-1131-4bdb-b44e-109b2ebbaeff_A-p%C3%A1ginas-6-17.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., y Landi, L. (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest biology and technology*, 75, 24-27.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., y Landi, L. (2016). Preharvest treatments with alternatives to conventional fungicides to control postharvest decay of strawberry. *Acta Horticulturae*, 1117, 111-118.
- Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E., y Droby, S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69-76.
- Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E., y Droby, S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69-76.
- Rotondo, R., Ferratto, J. A., y Firpo, I. T. (2008). Hortalizas mínimamente procesadas o de IV Gama. *Revista agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Rosario, Argentina, (26).
- Ropartz, D., y Ralet, M. C. (2020). Pectin Structure. In *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 17-36). Springer, Cham.
- Rosli, H. G., Civello, P. M., y Martínez, G. A. (2004). Changes in cell wall composition of three *Fragaria x ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(10), 823-831.
- Safitri, A., Theppakorn, T., Naradisorn, M., y Setha, S. (2015). Effects of UV-C irradiation on ripening quality and antioxidant capacity of mango fruit cv. Nam Dok Mai Si Thong. *Journal of Food Science and Agricultural Technology*, 1, 164-170.

- Saha, D. (2020). Food Processing: Understanding Common Threads. In *Economics of the Food Processing Industry* (pp. 13-52). Springer, Singapore.
- Saladié, M., Matas, A. J., Isaacson, T., Jenks, M. A., Goodwin, S. M., Niklas, K. J., ... y Rose, J. K. (2007). A reevaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. *Plant Physiology*, 144(2), 1012-1028.
- Salato, G. S., Ponce, N. M., Raffo, M. D., Vicente, A. R., y Stortz, C. A. (2013). Developmental changes in cell wall polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars with contrasting firmness. *Postharvest biology and technology*, 84, 66-73.
- Sánchez-Sevilla, J. F., Vallarino, J. G., Osorio, S., Bombarely, A., Posé, D., Merchante, C., ... y Valpuesta, V. (2017). Gene expression atlas of fruit ripening and transcriptome assembly from RNA-seq data in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
- Santin, M., Castagna, A., Miras-Moreno, B., Rocchetti, G., Lucini, L., Hauser, MT y Ranieri, A. (2020). Más allá de lo visible y debajo de la cáscara: cómo influye la radiación UV-B en el perfil fenólico de la pulpa del melocotón. Un estudio bioquímico y molecular. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1707.
- Santos, AL, Oliveira, V., Baptista, I., Henriques, I., Gomes, NC, Almeida, A., ... y Cunha, Â. (2013). Dependencia de la longitud de onda del daño biológico inducido por la radiación UV sobre las bacterias. *Archivos de microbiología*, 195 (1), 63-74.
- Sanmartin, M., Pateraki, I., Chatzopoulou, F., y Kanellis, A. K. (2007). Differential expression of the ascorbate oxidase multigene family during fruit development and in response to stress. *Planta*, 225(4), 873-885.
- Scalbert, A., y Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Scheller, H. V., y Ulvskov, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual review of plant biology*, 61.
- Schieber, M., y Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10), R453-R462.
- Seeram, N. P., Adams, L. S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H. S., y Heber, D. (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human caJincer cells in vitro. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(25), 9329-9339.
- SENASA. (2016). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Recuperado el 14 de Agosto de 2018, de <http://www.senasa.gob.ar/cadena-vegetal/frutales/informacion/informes-y-estadisticas>
- Sethi, S., Joshi, A., y Arora, B. (2018). UV treatment of fresh fruits and vegetables. In M. W. Siddiqui (Ed.), *Postharvest disinfection of fruits and vegetables* (Chap. 7, pp. 137-157). Cambridge: Academic Press.
- Severo, J., de Oliveira, I. R., Bott, R., Le Bourvellec, C., Renard, C. M., Page, D., y Rombaldi, C. V. (2017). Preharvest UV-C radiation impacts strawberry metabolite content and volatile organic compound production. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 390-393.
- Severo, J., de Oliveira, I. R., Tiecher, A., Chaves, F. C., y Rombaldi, C. V. (2015). Postharvest UV-C treatment increases bioactive, ester volatile compounds and a putative allergenic protein in strawberry. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 685-692.

- Shackel, K. A., Greve, C., Labavitch, J. M., y Ahmadi, H. (1991). Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiology*, 97(2), 814-816.
- Shama G, P Alderson (2005) UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialization. *Trends Food Science and Technology* 16, 128-136
- Shen, C., Yang, Y., Liu, K., Zhang, L., Guo, H., Sun, T., y Wang, H. (2016). Involvement of endogenous salicylic acid in iron-deficiency responses in Arabidopsis. *Journal of experimental botany*, 67(14), 4179-4193.
- Shen, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D., y Ye, X. (2013). Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage. *Postharvest biology and technology*, 76, 50-57.
- Shin, Y., Liu, R. H., Nock, J. F., Holliday, D., Watkins, C. B., (2007). Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 349-357.
- Singh, D., Kumar, A., Bhatia, A., Singh, H., Kukreja, S., Singh, B., y Arora, R. (2020). Role of Phytochemicals in Modulating Signaling Cascades in Cancer Cells. In *Pharmacotherapeutic Botanicals for Cancer Chemoprevention* (pp. 11-45). Springer, Singapore.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sinha, R. P., y Häder, D.-P. (2002). UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical y Photobiological Sciences*, 1(4), 225-236.
- Slavin, J. L., y Lloyd, B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in nutrition*, 3(4), 506-516.
- Smith, D. L., Abbott, J. A., y Gross, K. C. (2002). Down-regulation of tomato  $\beta$ -galactosidase 4 results in decreased fruit softening. *Plant physiology*, 129(4), 1755-1762.
- Soliva-Fortuny, R. C., y Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science y Technology*, 14(9), 341-353.
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárceñas, G., Vazquez-Duhalt, R., y Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 103, 293-300.
- Sozzi, G. O. (2004). Strategies for the regulation of postharvest fruit softening by changing cell wall enzyme activity. In *Production practices and quality assessment of food crops* (pp. 135-172). Springer, Dordrecht.
- Steelheart, C., Alegre, M. L., Baldet, P., Rothan, C., Bres, C., Just, D., ... y Bartoli, C. G. (2020). The effect of low ascorbic acid content on tomato fruit ripening. *Planta*, 252(3), 1-13.
- Steven T. Koike y Mark Bolda El moho gris o pudrición de la fresa <https://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/37849.pdf>
- Sun, Y., Qian, M., Wu, R., Niu, Q., Teng, Y., y Zhang, D. (2014). Postharvest pigmentation in red Chinese sand pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) in response to optimum light and temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 64-71.
- Surjadinata, B. B., Jacobo-Velázquez, D. A., y Cisneros-Zevallos, L. (2021). Physiological role of reactive oxygen species, ethylene, and jasmonic acid on UV light induced phenolic biosynthesis in wounded carrot tissue. *Postharvest Biology and Technology*, 172, 111388.

- Surjadinata, B. B., Jacobo-Velázquez, D. A., y Cisneros-Zevallos, L. (2017). UVA, UVB and UVC light enhances the biosynthesis of phenolic antioxidants in fresh-cut carrot through a synergistic effect with wounding. *Molecules*, 22(4), 668.
- Torregrosa, L., Echeverria, G., Illa, J., Torres, R., y Giné-Bordonaba, J. (2020). Spatial distribution of flavor components and antioxidants in the flesh of 'Conference' pears and its relationship with postharvest pathogens susceptibility. *Postharvest Biology and Technology*, 159, 111004.
- Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., y Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food chemistry*, 104(2), 466-479.
- Tsao, R., y Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of chromatography B*, 812(1-2), 85-99.
- Tsimogiannis, D., y Oreopoulou, V. (2019). Classification of phenolic compounds in plants. In *Polyphenols in plants* (pp. 263-284). Academic Press.
- Turantaş, F., Ersus-Bilek, S., Sömek, Ö., y Kuşçu, A. (2019). Decontamination effect of electrolyzed water washing on fruits and vegetables. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, 337-342.
- Urban, L., Charles, F., de Miranda, M. R. A., Aarouf, J., (2016). Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. *Plant Physiology and Biochemistry*. 105, 1-11.
- USDA (United States Department of Agriculture) Nutrition Data Base. Fecha de consulta: Febrero 2020. En <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1102710/nutrients>
- Quiche Carrasco, Edgar, y Cisneros-Zevallos, Luis. (2002). Efecto del escaldado y recubrimiento higroscópico sobre la calidad de zanahorias (*Daucus carota* var. Chantenay) pre-cortadas durante el almacenamiento. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(2), 187-192. Recuperado en 10 de junio de 2021, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttextpid=S0004-6222002000200011ylnq=esytlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0004-6222002000200011ylnq=esytlng=pt).
- Vallejo, C. V., Minahk, C. J., Rollán, G. C., y Rodríguez-Vaquero, M. J. (2020). Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* in strawberry juice enriched with strawberry polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Vasquez, H., Ouhibi, C., Lizzi, Y., Azzouz, N., Forges, M., Bardin, M., y Aarouf, J. (2017). Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L. *Scientia Horticulturae*, 222, 32-39.
- Verdaguer D., Jansen, A.K.J., Llorens L. Morales, L., Neugart, S., (2017). UV-A radiation effects on higher plants: exploring the known unknown. *Plant Science*, 225, 72-81.
- Vega, K., Ochoa, S., Patiño, L. F., Herrera-Ramírez, J. A., Gómez, J. A., y Quijano, J. C. (2020). UV-C radiation for control of gray mold disease in postharvest cut roses. *Journal of Plant Protection Research*.
- Vicente, A. R. (2004). Efecto de tratamientos térmicos de alta temperatura sobre calidad y fisiología postcosecha de frutillas (*Fragaria x ananassa* Duch.). Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
- Vicente, A. R., Crisosto, C. H., Sozzi, G. O., y Manganaris, G. A. (2009). *Nutritional quality of fruits and vegetables 2009*. Academic Press.

- Vicente, A. R., Manganaris, G. A., Ortiz, C. M., Sozzi, G. O., y Crisosto, C. H. (2014). Chapter 5- Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. In W. J. Florkowski, R. L. Shewfelt, B. Brueckner, y S. E. Prussia (Eds.), *Postharvest Handling (Third Edition)* (pp. 69-122). Academic Press.
- Vicente, A. R., Martínez, G. A., Chaves, A. R., y Civello, P. M. (2006). Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 116-122.
- Vicente, A. R., Pineda, C., Lemoine, L., Civello, P. M., Martínez, G. A., y Chaves, A. R. (2005). UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 69-78.
- Vicente, A. R., Pineda, C., Lemoine, L., Civello, P. M., Martínez, G. A., Chaves, A. R., (2005). UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology*.35, 69-78.
- Vicente, A. R., Saladie, M., Rose, J. K., y Labavitch, J. M. (2007). The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(8), 1435-1448.
- Vicente, A. R., y Lurie, S. (2014). Physical methods for preventing postharvest deterioration. *Editadopor Mohammed Wasim Siddiqui. Stewart Postharvest Review*, 10(2).
- Villarreal, N. M., Rosli, H. G., Martínez, G. A., y Civello, P. M. (2008). Polygalacturonase activity and expression of related genes during ripening of strawberry cultivars with contrasting fruit firmness. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2), 141-150.
- Villarreal-García, D., Nair, V., Cisneros-Zevallos, L., y Jacobo-Velázquez, D. A. (2016). Plants as biofactories: Postharvest stress-induced accumulation of phenolic compounds and glucosinolates in broccoli subjected to wounding stress and exogenous phytohormones. *Frontiers in plant science*, 7, 45.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., y Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
- Wachananawat, B., Kuroha, T., Takenaka, Y., Kajiura, H., Naramoto, S., Yokoyama, R., ... y Ishimizu, T. (2020). Diversity of pectin rhamnogalacturonan I rhamnosyltransferases in glycosyltransferase family 106. *Frontiers in plant science*, 11, 997.
- Wang, C. Y., Chen, C. T., y Wang, S. Y. (2009). Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*, 117(3), 426-431.
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K., y Seymour, G. B. (2018). Fruit softening: revisiting the role of pectin. *Trends in plant science*, 23(4), 302-310.
- Wang, S. Y., y Jiao, H. (2000). Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5677-5684.
- Wang, S. Y., y Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 140-146.
- Wanjiku, E. K., Waceke, J. W., Wanjala, B. W., y Mbaka, J. N. (2020). Identification and Pathogenicity of Fungal Pathogens Associated with Stem End Rots of Avocado Fruits in Kenya. *International Journal of Microbiology*, 2020.

- Waszczak, Cezary, Melanie Carmody, and Jaakko Kangasjärvi. (2018): "Reactive oxygen species in plant signaling." *Annual review of plant biology*. 69 (2018): 209-236.
- Watada, A. E., Ko, N. P., y Minott, D. A. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9(2), 115-125.
- White, P. J. (2002). Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 53(377), 1995-2000.
- Wiley, R. C. (1994). Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In *Minimally processed refrigerated fruits y vegetables* (pp. 66-134). Springer, Boston, MA.
- Winston, G. W., y Di Giulio, R. T. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic toxicology*, 19(2), 137-161.
- Woodward, J. R. (1972). Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23(4), 465-473.
- Wrolstad, R. E., Skrede, G., Lea, P. E. R., y Enersen, G. (1990). Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of food science*, 55(4), 1064-1065.
- Wrolstad, R. E., y Shallenberger, R. S. (1981). Free sugar and sorbitol in fruits-A compilation from the literature. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 64(1), 91-103.
- Wu, H. C., Bulgakov, V. P., y Jinn, T. L. (2018). Pectin methylesterases: Cell wall remodeling proteins are required for plant response to heat stress. *Frontiers in plant science*, 9, 1612.
- Wu, J., Liu, W., Yuan, L., Guan, W. Q., Brennan, C. S., Zhang, Y. Y., y Wang, Z. D. (2018). The influence of postharvest UV-C treatment on anthocyanin biosynthesis in fresh-cut red cabbage. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., y Prior, R. L. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(11), 4069-4075.
- Wu, Z., Tu, M., Yang, X., Xu, J., y Yu, Z. (2019). Effect of cutting on the reactive oxygen species accumulation and energy change in postharvest melon fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 257, 108752.
- Xie, Z., Charles, M. T., Fan, J., Charlebois, D., Khanizadeh, S., Rolland, D., y Dube, C. (2015). Effects of preharvest ultraviolet-C irradiation on fruit phytochemical profiles and antioxidant capacity in three strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(14), 2996-3002.
- Xie, Z., Fan, J., Charles, M. T., Charlebois, D., Khanizadeh, S., Rolland, D., y Zhang, Z. (2016). Preharvest ultraviolet-C irradiation: Influence on physicochemical parameters associated with strawberry fruit quality. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108, 337-343.
- Xiong, J. S., Zhu, H. Y., Bai, Y. B., Liu, H., y Cheng, Z. M. (2018). RNA sequencing-based transcriptome analysis of mature strawberry fruit infected by necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 104, 77-85.
- Xu, F., Cao, S., Shi, L., Chen, W., Su, X., y Yang, Z. (2014). Blue light irradiation affects anthocyanin content and enzyme activities involved in postharvest strawberry fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(20), 4778-4783.

- Xu, J. L., Gao, H., Zhang, H. B., Yao, S. F., Wang, D., y Shang, S. B. (2020). Application of waterborne rosin polymer coating for preserving strawberry during storage. *Journal of Food Safety*, e12791.
- Xu, Y., Charles, M. T., Luo, Z., Mimee, B., Veronneau, P. Y., Rolland, D., y Roussel, D. (2017). Preharvest ultraviolet C irradiation increased the level of polyphenol accumulation and flavonoid pathway gene expression in strawberry fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(46), 9970-9979.
- Xu, Y., Charles, M. T., Luo, Z., Roussel, D., y Rolland, D. (2017). Potential link between fruit yield, quality parameters and phytohormonal changes in preharvest UV-C treated strawberry. *Plant Physiology and Biochemistry*, 116, 80-90.
- Xylia, P., Clark, A., Chrysargyris, A., Romanazzi, G., y Tzortzakis, N. (2019). Quality and safety attributes on shredded carrots by using *Origanum majorana* and ascorbic acid. *Postharvest Biology and Technology*, 155, 120-129.
- Yan, L., Zheng, H., Liu, W., Liu, C., Jin, T., Liu, S., y Zheng, L. (2020). UV-C treatment enhances organic acids and GABA accumulation in tomato fruits during storage. *Food Chemistry*, 128126.
- Yoon, Y. S., Ameer, K., Song, B. S., Kim, J. K., Park, H. Y., Lee, K. C., ... y Park, J. H. (2020). Effects of X-ray irradiation on the postharvest quality characteristics of 'Maehyang' strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Food Chemistry*, 126817.
- Yuan, Z., Shi, Y., Cai, F., Zhao, J., Xiong, Q., Wang, Y., ... y Zheng, Y. (2020). Isolation and identification of polysaccharides from *Pythium arrhenomanes* and application to strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.) preservation. *Food chemistry*, 309, 125604.
- Zabetakis, I., Gramshaw, J. W., y Robinson, D. S. (1999). 2, 5-Dimethyl-4-hydroxy-2H-furan-3-one and its derivatives: analysis, synthesis and biosynthesis—a review. *Food chemistry*, 65(2), 139-151.
- Zabetakis, I., Leclerc, D., y Kajda, P. (2000). The effect of high hydrostatic pressure on the
- Zacarías-García, J., Rey, F., Gil, J. V., Rodrigo, M. J., y Zacarías, L. (2020). Antioxidant capacity in fruit of Citrus cultivars with marked differences in pulp coloration: Contribution of carotenoids and vitamin C. *Food Science and Technology International*, 1082013220944018.
- Zaro, M. J., Keunchkarian, S., Chaves, A. R., Vicente, A. R., Concellón, A., (2014). Changes in bioactive compounds and response to postharvest storage conditions in purple eggplants as affected by fruit developmental stage. *Postharvest Biology and Technology*. 96, 110-117.
- Zechmann, B., Stumpe, M., y Mauch, F. (2011). Immunocytochemical determination of the subcellular distribution of ascorbate in plants. *Planta*, 233(1), 1-12.
- Zhang, G., Jia, S., Yan, Z., Wang, Y., Zhao, F., y Sun, Y. (2020). A strawberry mitogen-activated protein kinase gene, FaMAPK19, is involved in disease resistance against *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, 265, 109259.
- Zhang, H., Godana, E. A., Sui, Y., Yang, Q., Zhang, X., y Zhao, L. (2020). Biological control as an alternative to synthetic fungicides for the management of grey and blue mould diseases of table grapes: a review. *Critical Reviews in Microbiology*, 1-13.
- Zhang, L., Cao, Q. Q., Granato, D., Xu, Y. Q., y Ho, C. T. (2020). Association between chemistry and taste of tea: A review. *Trends in Food Science y Technology*.

- Zhang, L., Li, Y., Liang, Y., Liang, K., Zhang, F., Xu, T., ... y Lu, B. (2019). Determination of phenolic acid profiles by HPLC-MS in vegetables commonly consumed in China. *Food chemistry*, 276, 538-546.
- Zhao, J., Liu, J., Wang, F., Wang, S., Feng, H., Xie, X., ... y Fang, C. (2020). Volatile constituents and ellagic acid formation in strawberry fruits of selected cultivars. *Food Research International*, 138, 109767.
- Zhao, W., Fernando, L. D., Kirui, A., Deligey, F., y Wang, T. (2020). Solid-state NMR of plant and fungal cell walls: a critical review. *Solid state nuclear magnetic resonance*, 107, 101660.
- Zhuang, J., Dai, X., Zhu, M., Zhang, S., Dai, Q., Jiang, X., ... y Xia, T. (2020). Evaluación del sabor astringente del té verde a través del perfil metabólico dirigido de polifenoles basado en espectrometría de masas. *Química de los alimentos*, 305, 125507.
- Zuñiga, P. E., Castañeda, Y., Arrey-Salas, O., Fuentes, L., Aburto, F., y Figueroa, C. R. (2020). Methyl Jasmonate Applications From Flowering to Ripe Fruit Stages of Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* 'Camarosa') Reinforce the Fruit Antioxidant Response at Post-harvest. *Frontiers in Plant Science*, 11, 538.
- Zykwinska, A., Thibault, J. F., y Ralet, M. C. (2007). Organization of pectic arabinan and galactan side chains in association with cellulose microfibrils in primary cell walls and related models envisaged. *Journal of experimental botany*, 58(7), 1795-1802.