



*Universidad Nacional de La Plata*  
*Facultad de Ciencias Exactas*

“EFECTO DE TRATAMIENTOS CON OZONO SOBRE  
MADURACION Y CALIDAD DE TOMATE (*Solanum  
lycopersicum*)” Y FRUTILLA (*Fragaria x ananassa*)’

Trabajo final de grado

Autor: Luis Rodoni

Directora: Dr. Alicia Raquel Chaves

Co-director: Dr. Ariel Roberto Vicente

Lugar de Trabajo: CIDCA. Centro de Investigación y Desarrollo en  
Criotecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas.

UNLP-CONICET. Calle 47 y 116 s/n° La Plata (1900) Argentina.

Tel/Fax: (0221) 424-9287 / 425-4853. E-mail:

[luisrodini@hotmail.com](mailto:luisrodini@hotmail.com)

*Año 2008*

*El presente Trabajo Final de Grado de la Carrera de Licenciatura en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, bajo la dirección de la Dra. Alicia R Chaves y Co-dirección del Dr. Ariel R Vicente.*

*Año 2008*

## **AGRADECIMIENTOS**

## **INDICE GENERAL**

	<b>Página</b>
<b><u>1. RESUMEN</u></b>	1
<b><u>2. OBJETIVOS</u></b>	4
<b><u>3. INTRODUCCIÓN</u></b>	6
<b>3.1. Frutas y hortalizas como alimentos</b>	7
<b>3.2. Producción de hortalizas en la región de La Plata</b>	7
<b>3.3. Características generales de tomate</b>	8
3.3.1. Historia y producción	8
3.3.2. Cultivo	10
3.3.3. Morfología y composición del fruto	12
3.3.4. Fisiología y maduración	19
3.3.5. Aspectos generales de calidad y tecnología poscosecha de tomate	21
<b>3.4. Características generales de frutilla</b>	24
<b>3.5. Características y usos del ozono</b>	26
3.5.1. Generalidades, ventajas y desventajas de su uso	26
3.5.2. Generación y medición de ozono	27
3.5.3. Usos del ozono	28
<b><u>4. MATERIALES Y METODOS</u></b>	31
<b>4.1. Material vegetal y selección de tratamientos</b>	32
<b>4.2. Efecto de tratamientos con ozono sobre la calidad de tomate</b>	32
4.2.1. Fenoles totales	32

4.2.2. Pérdida de peso	33
4.2.3. Firmeza	33
4.2.4. Color superficial	33
4.2.5. Acidez y pH	33
4.2.6. Azúcares totales	33
4.2.7. Capacidad antioxidante	34
4.2.8. Actividad respiratoria	34
<b>4.3. Efecto de tratamientos con ozono en frutilla</b>	<b>35</b>
<b>4.4. Análisis estadístico</b>	<b>35</b>
<b><u>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b>	<b>36</b>
<b>5.1. Selección de tratamientos</b>	<b>37</b>
<b>5.2. Efecto de tratamientos con ozono sobre la calidad de tomate</b>	<b>41</b>
5.2.1. Fenoles totales	41
5.2.2. Pérdida de peso	42
5.2.3. Firmeza	43
5.2.4. Color superficial	44
5.2.5. Azúcares totales acidez, pH y capacidad antioxidante	46
5.2.6. Actividad respiratoria	49
<b>5.3. Efecto de tratamientos con ozono en frutilla</b>	<b>50</b>
<b><u>6. CONCLUSIONES</u></b>	<b>52</b>
 	55
<b><u>7. REFERENCIAS</u></b>	

## **INDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

<b><u>I. TABLAS</u></b>	<b>Página</b>
<b><u>Tabla 1:</u></b> Evolución de la producción mundial y de principales países de tomate en los últimos 10 años (miles de toneladas). (FAOSTAT, 2008).	9
<b><u>Tabla 2:</u></b> Composición de frutos de tomate. (USDA 2008).	16
<b><u>Tabla 3:</u></b> Actividad respiratoria y producción de etileno en frutos de tomate a diferente temperatura (Suslow y Cantwell, 2006).	22
<b><u>Tabla 4:</u></b> Azúcares totales, acidez titulable, pH y antioxidantes totales en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y a 20°C por 9 d.	47
<b><u>Tabla 5:</u></b> Efecto de tratamientos con ozono sobre el color de cáliz, receptáculo y firmeza en frutillas controles (C) y tratadas con ozono por 2 (T <sub>1</sub> ) o 5 min (T <sub>2</sub> ). Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de $\alpha= 0,05$ .	51

## **II. FIGURAS**

## **Página**

**Figura 1:** Morfología de frutos de tomate. Corte transversal mostrando las diferentes regiones. 12

**Figura 2:** Principales tipos de tomate comercializados en nuestro país. 14  
A. Redondo. B. Cherry. C-Perita D. Larga vida. E. Platense.

**Figura 3:** Distribución de producción de tomates en la provincia de Buenos Aires por tipo. (CHPBA, 2006). 14

**Figura 4:** Ataque de patógenos en frutos de tomate tratados con diferentes dosis de ozono y almacenados por 9 d a 20°C. 37

**Figura 5:** Apariencia de frutos de tomate control y tratados con ozono (10 min) y almacenados por 9 d a 20°C. 38

**Figura 6:** Fenoles totales en frutos de tomate de tomate control y tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 6 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha= 0,05$ . 42

**Figura 7:** Pérdida de peso en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha= 0,05$ . 43

<b><u>II. FIGURAS (Cont.)</u></b>	<b>Página</b>
<b><u>Figura 8:</u></b> Firmeza en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$ .	44
<b><u>Figura 9:</u></b> Color superficial (Hue) en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d.	45
<b><u>Figura 10:</u></b> Luminosidad en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d.	46
<b><u>Figura 11:</u></b> Principales antioxidantes dietarios presentes en frutas y hortalizas.	48
<b><u>Figura 12:</u></b> Principales factores que afectan el nivel de antioxidantes en frutas y hortalizas.	49
<b><u>Figura 13:</u></b> Actividad respiratoria en frutos de tomate control o tratados con ozono (10min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$ .	49
<b><u>Figura 14:</u></b> Daño en el cáliz y receptáculo de frutillas ocasionado por tratamientos con ozono luego de 2 d de almacenamiento a 20°C.	50



# **1. Resumen**

En el presente trabajo se evaluó el efecto de los tratamientos con ozono en forma gaseosa sobre la calidad y vida poscosecha de tomate y frutilla. En primer lugar se cosecharon tomates en estado de maduración rojo claro y se sometieron a tratamientos con ozono gaseoso ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 5; 10 o 20 min. Luego del tratamiento los frutos se almacenaron a  $20^\circ\text{C}$  y se evaluó la incidencia de enfermedades de poscosecha. Los frutos tratados por 10 o 20 min mostraron una reducción (23-26%) en el desarrollo de patógenos respecto a los frutos control luego de 9 días de almacenamiento. Debido a que no se observaron diferencias entre los tratamientos de 10 y 20 min se seleccionó el primero para posteriores evaluaciones. En otra serie de ensayos, se trataron frutos con ozono por 10 min y se almacenaron a  $20^\circ\text{C}$  por 9 días. Correspondientes controles sin tratamiento con ozono se almacenaron directamente a  $20^\circ\text{C}$ . Durante el período de almacenamiento se determinó la luminosidad, el color superficial, la pérdida de peso, la actividad respiratoria, la firmeza, el contenido de azúcares, la acidez y pH, el contenido de fenoles totales y antioxidantes. Los frutos tratados mostraron un retraso en el ablandamiento y una menor pérdida de peso que los controles. Asimismo los tratamientos con ozono provocaron un incremento en la acumulación de fenoles totales que podría estar relacionado con la disminución observada en el ataque de patógenos. Por otra parte, la actividad respiratoria fue mayor en los frutos tratados como consecuencia de la exposición a la atmósfera enriquecida en ozono. Esto podría deberse a una respuesta de estrés provocada por el ozono o bien a un retraso en el pico climatérico de los frutos. Por último, no se observaron diferencias significativas en otros aspectos de calidad como el color, luminosidad, antioxidantes totales, azúcares o acidez. A fin de evaluar el efecto de este tipo de tratamientos en otros frutos se expusieron frutillas con diferentes dosis de ozono ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$  por 2, 5 o 10 min) pero en todos los casos se observó la aparición de lesiones superficiales, ablandamiento acelerado y degradación acelerada de clorofila en el cáliz.

En síntesis, los resultados del presente trabajo sugieren que los tratamientos con ozono podrían resultar de utilidad para disminuir la incidencia de enfermedades y retrasar el ablandamiento excesivo, dos problemas de importancia en tomate, pero por el contrario, en frutilla no resultan beneficiosos, al menos en las dosis ensayadas. Resultaría de interés la realización de futuros estudios a fin de evaluar el efecto de este tipo de metodologías sobre patógenos humanos que pudieran estar presentes eventualmente en los frutos. Por otra parte, resultaría pertinente explorar los mecanismos asociados con el retraso del ablandamiento observado como consecuencia de la aplicación de este tipo de tratamientos en tomate.

## Summary

In the present work we evaluated the effect of gaseous ozone treatments on tomato and strawberry fruit quality and postharvest life. Tomato fruit was harvested at light red stage and treated with ozone ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) for 5; 10 or 20 min. After that, fruit was stored at  $20^\circ\text{C}$  and during this period we evaluated the incidence of postharvest diseases. Fruit treated for 10 or 20 min showed reduced decay (23-26%) compared to control fruit. Since there were not differences between these treatments the shorter one (10 min) was selected for further assays. In another set of experiments tomato fruit was treated with ozone ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) for 10 min and stored at  $20^\circ\text{C}$  for 9 d. Corresponding controls without treatment were directly stored at  $20^\circ\text{C}$ . During storage surface color, lightness, firmness, respiration rate, weight loss, sugars, acidity, pH antioxidants and total phenolics were evaluated. Treated-fruit showed reduced softening and weight loss. Ozone treatments increased the content of total phenolic compounds which could be associated with the observed reduction in fruit decay. Fruit respiration rate was higher in fruit treated with ozone. This could be related to a stress response upon exposure to ozone or with a delay in the respiratory climacteric. Finally no significant differences were observed in fruit color, lightness, sugars, acidity or antioxidants between control and treated fruit.

In order to evaluate the effect of ozone treatments in other fruits, strawberries were exposed to different ozone doses ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$  for 2, 5 o 10 min) but in all cases surface lesions and accelerated calyx discoloration and softening were observed. Results from this work suggest that ozone treatments could be useful to reduce postharvest decay and softening, two main problems in tomato fruit storage, but they are not beneficial (in the doses evaluated) in strawberry. Future studies evaluating the effect of these methodologies on the control of human pathogens that might be present in fruits, might be useful. In addition, it would be useful to explore the mechanisms associated with the reduced loss of firmness observed in response to ozone treatments in tomato.

## **2. Objetivos**

***1- Seleccionar un tratamiento adecuado con ozono para su aplicación poscosecha en tomate y evaluar su efecto sobre la incidencia de enfermedades, calidad y vida poscosecha de los frutos.***

***2- Explorar el efecto del tratamiento con ozono en frutos que no toleran el lavado en poscosecha como frutilla.***

### **3. Introducción**

### **3.1. FRUTAS Y HORTALIZAS COMO ALIMENTOS**

Las frutas y hortalizas son componentes importantes en la dieta (WHO/FAO, 2003). Una gran variedad de productos fruti-hortícolas se encuentran disponibles a lo largo del año. Los mismos pueden utilizarse en estado fresco o bien procesados (enlatados, encurtidos, deshidratados o congelados). Muchas frutas y hortalizas pueden consumirse en diferentes momentos durante el día y en ciertos casos debido a su practicidad y tamaño conveniente resultan un excelente alimento entre las principales comidas. Estos productos son generalmente bajos en calorías (con algunas excepciones como palta, aceituna y papa), poseen bajo contenido de sodio y una elevada proporción relativa de potasio. Estos productos se consideran especialmente una buena fuente de fibra así como de ciertos minerales, vitaminas (ej. vitamina C y pro-vitamina A) y antioxidantes (Vicente y col., 2008). Debido a todas estas características los productos fruti-hortícolas poseen un importante rol en una dieta saludable. Un amplio número de trabajos muestran que el consumo de frutas y hortalizas se asocia con la reducción en la incidencia de algunas enfermedades y el retraso en ciertos desórdenes vinculados con el envejecimiento (Ames y col., 1993; Cao y col., 1996; Waris y Ahsan, 2006; Jeremy y col., 2004). No obstante, en muchos casos el consumo de frutas y hortalizas se encuentra aún por debajo de la recomendación de la FAO y OMS de 400 g ó 5-10 porciones por día (WHO/FAO, 2003).

### **3.2. PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS EN LA REGIÓN DE LA PLATA**

El partido de La Plata posee gran relevancia en la producción Hortícola Nacional. Actualmente existen 3.856 Unidades de Producción Horti-Frutícolas en la Provincia de Buenos Aires y aproximadamente un tercio de las mismas se ubican en el Partido de La Plata (CHFBA, 2005). La producción total se ubica en unas 3.000 hectáreas de las cuales 1.000 corresponden a producción en invernaderos. Esto hace que la región mencionada sea una de las principales proveedoras de frutas y hortalizas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Conurbano Bonaerense que se estima en más de 12 millones de habitantes. La actividad hortícola en nuestra región incluye el cultivo de una gran diversidad de productos. Las hortalizas de frutos (tomate, pimiento, berenjena) representan un 60% del volumen de producción, mientras que un 30% corresponde a hortalizas de hoja, distribuyéndose el volumen restante principalmente entre crucíferas y hortalizas pesadas (CHFBA 2005). Dentro de las hortalizas de frutos se ubica en primer lugar el tomate (*Solanum lycopersicum*) que ocupa una significativa superficie durante el período primavera-estival. La producción en invernáculos ha permitido, por un lado, extender los períodos

productivos, pero principalmente incrementar los rendimientos por unidad de superficie. En la actualidad el 80% del volumen de tomate producido en la región se obtiene en sistemas bajo cubierta.

### **3.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE TOMATE**

#### **3.3.1. Historia y producción**

El tomate (*Solanum lycopersicum*) pertenece a la familia de las Solanáceas, (Mueller y col., 2005). El origen de este género se localiza en la región andina que se extiende desde Perú al norte de Chile. La mayor parte de la evidencia sugiere que la domesticación de esta especie se produjo en América Central. Las culturas precolombinas en Perú solían decorar los productos textiles y cerámica con figuras asociadas con cultivos de importancia, pero llamativamente los tomates no aparecen dentro de estos (Rick, 1995). Por lo tanto, se cree que el tomate comenzó a utilizarse como alimento en México donde crecería como maleza entre los huertos (Gianessi y col., 2003). Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas, tamaños y colores, pero por entonces ya habían sido llevados a Europa y servían como alimento en España e Italia (Nuez, 1995). Los primeros tomates que se producían en Italia se estima que eran de color amarillo por lo que recibieron el nombre de manzana de oro o "*pomo d'oro*". También se difundió en Francia donde se lo llamaba "*pomme d'amour*" (Nuez, 1995). En otros países europeos como en Alemania sólo se utilizaba en farmacia y así ocurrió hasta comienzos del siglo XIX (Gienassi y col., 2003). Los españoles y portugueses difundieron el tomate a Oriente Medio y África, y de allí a otros países asiáticos y a Estados Unidos y Canadá.

El cultivo de tomate se realiza en la actualidad en todo el mundo y posee gran valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. En la Tabla 1 se muestra la evolución en la producción de tomate en los últimos 10 años a nivel mundial y en los países en los que se cultiva con mayor importancia. Los principales productores en la actualidad son China, que en el 2006 alcanzó el 26% de la producción mundial, EEUU, Turquía e India. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en los rendimientos y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada.

En nuestro país el tomate es la segunda hortaliza más consumida, después de la papa y la producción actual se ubica en cerca de un millón de toneladas anuales (SAGPYA, 2008). El cultivo de tomate a campo apunta a satisfacer dos

destinos bien diferenciados, que ha producido una fuerte especialización y zonificación. Por un lado, la industria, que requiere de frutos tipo perita con mayor contenido de sólidos solubles y mejores propiedades para su procesamiento, y por el otro lado el consumo fresco. Aproximadamente el 70% de la producción nacional se deriva al consumo en fresco y el resto se industrializa en sus diversas formas pelados, extractos, puré, jugos, salsas, etc. En mucha menor escala se utiliza para la elaboración de productos deshidratados o encurtidos. El tomate en fresco se consume principalmente en ensaladas o cocido en la preparación de salsas, aunque en algunos países se lo consume frito. Buenos Aires, Corrientes, el NOA y Mendoza se encargan de abastecer el mercado en fresco mientras que esta última provincia abastece el 70% del tomate industrializado. San Juan también produce una significativa proporción de tomate para industria (13%).

**Tabla 1:** Evolución de la producción mundial y de principales países de tomate en los últimos 10 años (miles de toneladas). (FAOSTAT, 2008).

	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<b>Brasil</b>	2.717	2.784	3.305	2.982	3.103	3.652	3.708	3.515	3.452	3.272
<b>Chile</b>	1.121	1.205	1.243	1.185	1.262	1.287	1.250	1.200	1.230	1.230
<b>China</b>	16.369	17.097	18.609	22.325	24.117	27.154	28.844	30.144	31.626	32.540
<b>Egipto</b>	5.873	5.753	6.273	6.785	6.328	6.777	7.140	7.640	7.600	7.600
<b>España</b>	3.360	3.560	3.874	3.766	3.971	3.979	3.947	4.383	4.810	3.679
<b>EEUU</b>	10.534	10.009	13.310	11.558	10.001	12.383	10.522	12.867	11.043	11.250
<b>Grecia</b>	2.026	2.131	2.127	2.085	2.048	1.752	1.830	1.962	1.711	1.711
<b>India</b>	7.000	6.180	8.270	7.430	7.240	7.460	7.600	8.125	8.637	8.637
<b>Irán</b>	2.547	3.204	3.490	3.190	3.009	4.109	4.429	4.022	4.781	4.781
<b>Italia</b>	5.574	5.977	7.253	7.538	6.387	5.750	6.651	7.683	7.187	6.351
<b>México</b>	2.320	2.251	2.411	2.086	2.182	1.989	2.148	2.968	2.800	2.878
<b>Marruecos</b>	804	1.242	1.116	1.008	881	991	1.036	1.213	1.205	1.245
<b>Rusia</b>	1.597	1.661	1.696	1.685	1.950	1.979	2.021	2.017	2.295	2.414
<b>Turquía</b>	6.600	8.290	8.956	8.890	8.425	9.450	9.820	9.440	10.050	9.854
<b>Mundo</b>	89.888	95.520	108.563	108.337	106.440	114.695	117.282	126.522	127.269	125.543

### **3.3.2. Cultivo**

Si bien la planta de tomate es perenne, en condiciones de cultivo moderno se la trata como anual (Nuez, 1995). Puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas). Posee una raíz principal (corta y débil), numerosas raíces secundarias y adventicias. El tallo, posee un grosor que oscila entre 2-4 cm, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias. Las hojas son compuestas, con 7 a 9 folíolos peciolados, lobulados, borde dentado y se encuentran recubiertas de pelos glandulares. La flor es perfecta, e hipógina y consta de 5 o más sépalos que se agrupan en inflorescencias de tipo racimo, generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate (Nuez, 1995).

La temperatura óptima de desarrollo oscila entre 20 y 30°C durante el día y entre 1 y 17°C durante la noche; temperaturas superiores a los 30-35°C afectan por un lado la fructificación, por mal desarrollo de óvulos, y por otro al desarrollo general de la planta. Su comportamiento en climas fríos no es bueno y a temperaturas cercanas a 12°C se originan problemas en el desarrollo de la planta. Por debajo de 10°C o al superar los 30°C los frutos muestran diversos defectos como color no uniforme y aparición de tonalidades amarillentas. La humedad relativa (HR) óptima oscila entre un 60% y un 80%. Condiciones de HR muy alta pueden favorecer el rajado de los frutos y la aparición de enfermedades, en cambio la baja HR impide la fijación del polen en el estigma afectando el proceso de polinización y consecuentemente el cuajado de frutos. La planta necesita buena iluminación para mantener buen desarrollo, floración y fructificación. No es muy exigente en cuanto al suelo, pero resulta deseable un buen drenaje. En el cultivo del tomate las cantidades óptimas de CO<sub>2</sub> son de 700-800 ppm pero su exceso provoca el cierre de los estomas de las hojas afectando la fotosíntesis

Los marcos de plantación dependen del porte de la planta; para portes grandes se usan marcos de 1,5 metros entre líneas y 0,5 m entre plantas, mientras que para plantas de menor tamaño, y manejadas con menor número de guías, suelen utilizarse distancias de 1 m entre líneas y 0,3 m entre plantas. La poda de formación es imprescindible para las variedades de crecimiento indeterminado. Comienza a realizarse a los 15-20 días del trasplante, retirando los primeros tallos laterales y las hojas viejas. Luego se determina el número de tallos a dejar por planta, que por lo común es 1 o 2. Para que desarrolle más raíces puede hacerse un aporcado en el que la parte inferior de la planta se cubre con tierra. El tutorado

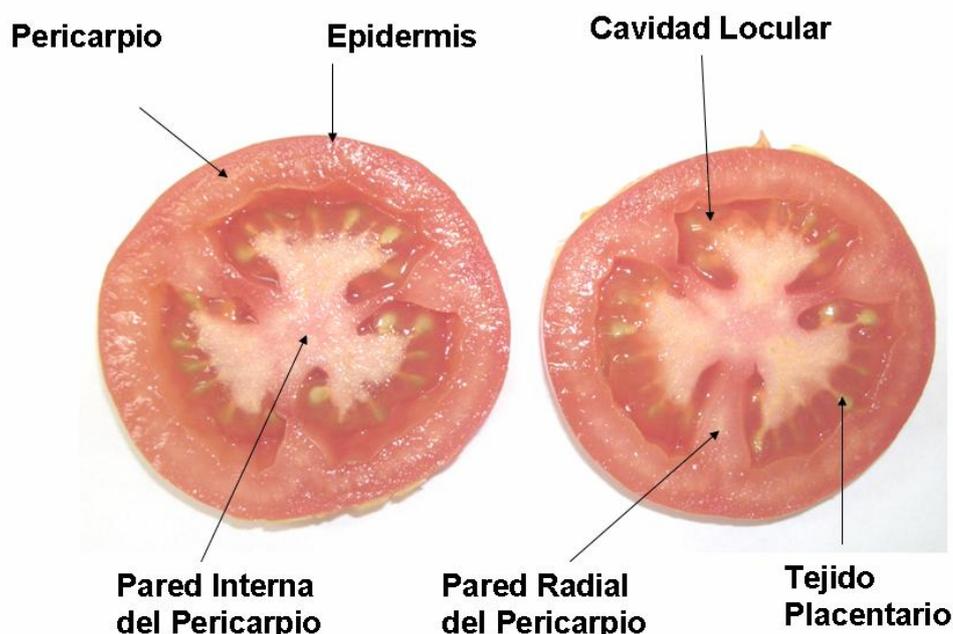
mantiene erguida la planta previniendo que los frutos toquen el suelo, mejorando la aireación e iluminación y facilitando los trabajos de desbrotado y recolección. En invernadero se realiza sujetando la planta con hilos de polipropileno y alambres mientras que en la producción a campo se suele realizar con cañas. El desbrotado consiste en la eliminación de desarrollo caulinar lateral para mejorar la forma de la planta. El corte durante esta operación debe ser limpio para evitar las infecciones. En el deshojado se eliminan las hojas senescentes para minimizar las fuentes de inóculo y el desarrollo de enfermedades, mejorar la aireación y el color de los frutos. La práctica de raleo busca limitar el número de frutos por racimo, eliminar aquellos mal posicionados, dañados, deformes o pequeños, con el fin de asegurar que los frutos restantes sean de buena calidad. En los cultivos protegidos de tomate el aporte de agua y gran parte de los nutrientes se realiza de forma generalizada mediante riego por goteo. En los últimos años han comenzado a desarrollarse algunos emprendimientos de cultivo sin suelo. Bajo éste sistema de cultivo las raíces se desarrollan sobre un soporte inerte (sustrato) que asegura una buena disponibilidad de agua y aire a las raíces. Los sustratos pueden ser orgánicos como por ejemplo turba, viruta de madera, o inorgánicos como arena, grava, perlita, lana de vidrio y ladrillo trozado entre otros.

Algunas de las plagas que pueden afectar el cultivo son: ácaros como la arañuela roja (*Tetranychus urticae*), ésta se desarrolla en el revés de la hoja y causa decoloraciones o manchas amarillentas en las hojas, y puede causar defoliación. La mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*) causa amarillamiento y debilitamiento de las plantas porque las larvas y adultos se alimentan succionando savia de las hojas. También son potencialmente transmisores de virus. Los pulgones (*Aphis gossypii* y *Myzus persicae*) forman colonias negras o verdes que se distribuyen en focos que se dispersan, principalmente en primavera y otoño, mediante las hembras aladas. Las orugas causan diferentes daños según la especie: daños ocasionados a la vegetación (*Spodoptera exigua*) o en frutos y tallos (*Heliothis peltigera*). Los nematodos (*Meloidogyne spp*) penetran desde el suelo a las raíces donde provocan la formación de nódulos y la pérdida de funcionalidad de raíces, afectando la asimilación de nutrientes y agua. Algunos parásitos pueden ser vectores de virus por ejemplo los pulgones pueden ser transmisores del virus Y de la papa y el virus del mosaico del pepino; y los trips (*Frankliniella occidentalis*) del virus de la peste negra, patógeno de gran importancia mundial. Los graves daños que ocasiona se deben a su amplia distribución (extendido por las zonas hortícolas del área templada y subtropical) y a la elevada eficiencia de los trips para transmitir el

virus. Otras enfermedades de este cultivo incluyen: los odios (*Leveillula taurina*) parásitos semi-internos que pueden causar necrosis de las hojas, la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) que causa lesiones pardas en flores y en los frutos podredumbre con crecimiento de micelio. El hongo de la podredumbre blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) puede atacar el tallo, hojas y flores produciendo podredumbre blanda. La alternariosis (*Alternaria solani*) produce lesiones negras en tallos, hojas, frutos y peciolas. Algunos hongos de suelos incluyen a *Fusarium oxysporum*; *Verticillium dahliae* y *Phytophthora infestans*; entre otros. Para el control de enfermedades se realizan tratamientos químicos y cuidados preventivos como por ejemplo eliminar plantas infectadas y restos de cultivos enfermos, utilizar variedades resistentes, utilizar semillas certificadas y plántulas sanas. Algunas plagas pueden controlarse mediante enemigos biológicos naturales.

### **3.3.3. Morfología y composición del fruto**

La mayor parte de los frutos se desarrollan a partir de un gineceo con uno o más carpelos. Cuando el ovario se desarrolla para dar lugar a los frutos, sus carpelos se transforman entonces en el pericarpio. Este consiste en 3 zonas diferenciadas epi, meso y endocarpio. El fruto de tomate desde el punto de vista botánico se denomina baya y posee externamente un epicarpio o piel delgada y lisa, mesocarpio y endocarpio carnosos (Figura 1). El mismo puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos dependiendo del tipo y variedad.



**Figura 1:** Morfología de frutos de tomate. Corte transversal mostrando las diferentes regiones.

En la zona apical se encuentran el pedúnculo que sostiene el fruto en la planta y los restos del cáliz. Por fuera de la capa celular más externa o epidermis, se encuentra la cutícula formada por cutina y ceras que incrementa su grosor durante el desarrollo y sirve de protección. Por debajo de ésta se encuentra la epidermis y 3 capas de tejido colenquimático. Los tabiques de los carpelos dividen al ovario en varios lóculos que se mantienen aún en el fruto desarrollado. Axialmente se ubica la placenta a la cual se unen las semillas y que dará lugar al tejido locular en los frutos desarrollados. El color depende del grado de maduración y varía desde verde a rosa, luego a rojo claro y finalmente a rojo intenso. Actualmente, desde el punto de vista morfológico, en el mercado se comercializan los siguientes tipos de tomate:

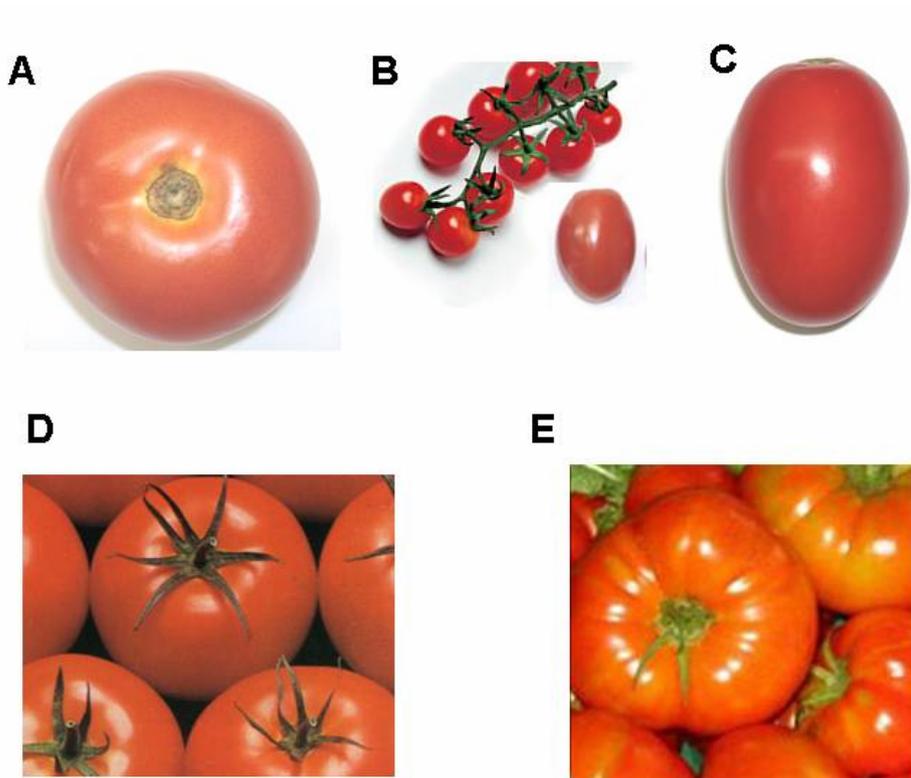
A. Redondo: El diámetro transversal es igual o mayor que el eje longitudinal. Está dividido en cuatro categorías, en las que el diámetro fluctúa entre los 65 a 100 milímetros (Figura 2). A nivel regional se suele denominar como tomate redondo sólo a aquellos que cumplen los requisitos mencionados con relación a las dimensiones pero sin encontrarse dentro de los subgrupos Platense o larga vida. En la provincia de Buenos Aires constituye el tipo más común con un 60% del volumen total producido (Figura 3).

B. Cherry: Corresponde a la especie *S. lycopersicum var cerasiforme*. Son pequeños y presentan un diámetro inferior a los 40 mm.

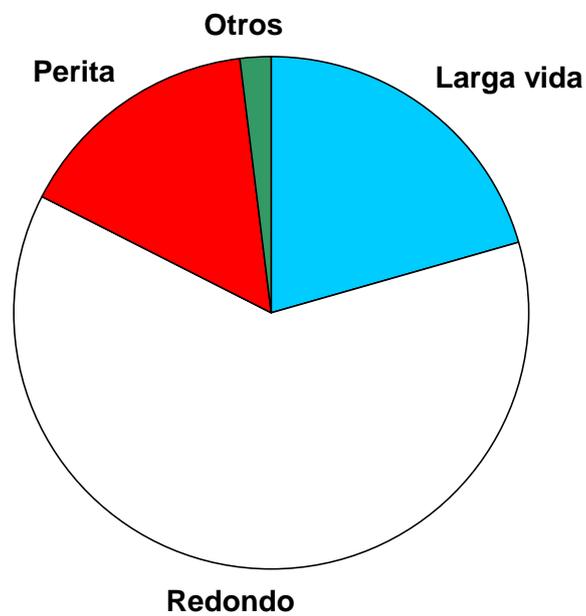
C. Perita: El eje longitudinal es mayor que el transversal. Posee mayor contenido de sólidos solubles. Originariamente su cultivo se orientaba a la industria. Actualmente también se destina una pequeña proporción al consumo en fresco.

D. Larga vida: Incluye a aquellas variedades genéticamente mejoradas de tomate que presentan un mejor comportamiento poscosecha. Esto se logró por cruzamientos a fin de incorporar formas mutadas de los genes *Nor* y *Rin* que retrasan la maduración. Las variedades de tomate larga vida disponibles en el mercado no son transgénicas. Este tipo de tomate se encuentra bastante difundido a nivel de la distribución en las cadenas de supermercados.

E. Platense: El tradicional tomate de la zona, variedad botánica caracterizada por su sabor intenso, su forma irregular, achatada, acostillada o fuertemente lobulada. El tomate Platense es apreciado por su sabor y aroma aunque posee mayores problemas desde el punto de vista de la conservación poscosecha y menores rendimientos y un mayor porcentaje de descarte que otras variedades comerciales. Recientemente se han desarrollado programas destinados a recuperar este producto tradicional de la región.



**Figura 2:** Principales tipos de tomate comercializados en nuestro país. A. Redondo. B. Cherry. C-Perita D. Larga vida. E. Platense.



**Figura 3:** Producción de tomate en la provincia de Buenos Aires por tipo. (CHFBA, 2005).

En la Tabla 2 se presenta la composición, promedio de tomates en estado verde maduro y de madurez de consumo. El valor calórico de los frutos es pequeño debido a la baja cantidad de materia seca y grasas. El balance entre el contenido de agua y los distintos constituyentes en el tomate maduro depende de varios factores como el genotipo (ej. como se mencionó anteriormente el contenido de sólidos solubles es mayor en tomate perita que en otros tipos), el ambiente de crecimiento de la planta, los tratamientos nutricionales que haya recibido y hasta los tratamientos poscosecha del fruto, pero por lo común el contenido de agua ronda el 95% (Petro-Turza, 1987). En condiciones de salinidad elevada durante el desarrollo del fruto, ya sea por el exceso de fertilizantes o por riego escaso puede observarse un incremento en el nivel de materia seca de los frutos. El 'flavor' es la combinación de compuestos volátiles detectados por el olfato y otros compuestos que pueden ser evidenciados por el sistema gustativo. El sabor está dado principalmente por los azúcares reductores (glucosa y fructosa), aunque también se encuentra sacarosa en tomates cherry. Los azúcares representan hasta el 70% del contenido de sólidos solubles, y pueden ser estimados en forma rápida por refractometría. El contenido total en tomate maduro puede oscilar entre 1,7 y 4,7% (Petro-Turza, 1987). La mayor cantidad de azúcares se encuentra en la pared locular. Con respecto a los cambios durante el desarrollo, alcanza un pico cuando la fruta está muy madura. Por su parte, la acidez se debe a la presencia de diferentes ácidos orgánicos (málico y cítrico principalmente). Los cambios observados en los ácidos durante la maduración dependen del compuesto considerado. Mientras que la contribución a la acidez por parte del ácido málico cae marcadamente en la medida que la maduración progresa, el contenido de ácido cítrico se mantiene sin grandes variaciones. La distribución de los ácidos no es homogénea en los frutos, acumulándose en mayor proporción en el tejido locular. La relación entre el contenido de ácidos y azúcares es determinante del sabor, que resulta muy favorecido con elevada acidez y el contenido de azúcares también alto.

Como se mencionó, los componentes volátiles del aroma se complementan con aquellos que contribuyen al sabor otorgando un 'flavor' característico al fruto. Se han encontrado más de 400 sustancias volátiles producidas en tomate, incluyendo hidrocarburos, fenoles, éteres, aldehídos, alcoholes, cetonas, ésteres, lactonas, compuestos sulfurados, aminas y una amplia variedad de moléculas heterocíclicas. Por cromatografía gaseosa se han podido separar estos componentes e identificar aquellos más relevantes. Baldwin y col., (1991) y McDonald y col., (1996) identificaron 16 componentes importantes en el aroma de tomate (acetaldehído, acetona, metanol, etanol, 1-penten-3-ona, hexanal, cis-3-hexenal, 2,3-metilbutanol,

trans-2-hexenal, trans-2-heptenal, 6-metil-5-hepten-2-ona, cis-3-hexenol, 1-nitro-2-feniletano, geranilacetona, 2-isobutiltiazol, y  $\beta$ -ionona). Si bien los frutos de tomate pueden cosecharse en estado verde maduro y madurarse fuera de la planta existen experiencias que sugieren que la maduración en planta es preferible. Del mismo modo, la refrigeración prolongada reduce el aroma, lo que lleva a un producto de menor calidad sensorial (Maul y col., 2000).

**Tabla 2:** Composición de frutos de tomate. (USDA 2008).

Componente	Unidades	Valor cada 100 g	
		Tomate verde	Tomate rojo
Agua	g	93,0	94,5
Energía	kcal	23	18
Proteína	g	1,20	0,88
Lípidos	g	0,20	0,20
Cenizas	g	0,50	0,50
Fibra	g	1,10	1,20
Azúcares totales	g	4,00	2,63
Sacarosa	g	ND	0,00
Glucosa	g	ND	1,25
Fructosa	g	ND	1,37
Almidón	g	ND	0,00
<b>Minerales</b>			
Calcio	mg	13	10
Hierro	mg	0,51	0,27
Magnesio	mg	10	11
Fósforo	mg	28	24
Potasio	mg	204	237
Sodio	mg	13	5
<b>Vitaminas</b>			
Vitamina C	mg	23,4	12,7
Tiamina	mg	0,06	0,037
Riboflavina	mg	0,04	0,019
Niacina	mg	0,50	0,594
Ác. pantoténico	mg	0,50	0,089
Vitamina B-6	mg	0,081	0,080
Folato (B-9)	$\mu$ g	9,0	15
Vitamina A	IU	642	833
Vitamina E	mg	0,38	0,54
Vitamina K	$\mu$ g	10,1	7,9
<b>Otros</b>			
$\beta$ -caroteno	$\mu$ g	346	449
Caroteno, alpha	$\mu$ g	78	101
Licopeno	$\mu$ g	0	2573
Luteína + zeaxantina	$\mu$ g	0	123

Desde el punto de vista nutricional el tomate es una buena fuente de pro-vitamina A y vitamina C (Gould, 1983) (Tabla 2). La vitamina C incluye al ácido ascórbico (AsA) y a su primer producto de oxidación el ácido dehidro-ascórbico (debido a que puede ser reducido en el organismo para regenerar AsA). Los humanos y algunas otras especies no pueden sintetizar al AsA (Chatterjee, 1973) debido a que el gen que codifica para el último enzima en la vía biosintética (L-gulonolactona oxidasa) no es funcional (Valpuesta y Botella, 2004). La síntesis de AsA en plantas ha sido elucidada en forma relativamente reciente y ocurre a partir de la L-galactosa (Smirnoff y Wheeler, 2000; Smirnoff, 2000). Otra ruta alternativa que utiliza al ácido galacturónico (que podría ser reciclado de la pectina de las paredes celulares) ha sido descrita en frutos (Agius y col., 2003).

Las frutas y hortalizas son la fuente más importante de vitamina C. En los Estados Unidos aportan un 90% del total de la vitamina C en la dieta (Hiza y Bente, 2007). El AsA posee funciones cruciales en humanos como la participación en la síntesis de colágeno (Murad y col., 1981). Por otra parte, en dietas pobres en carnes puede facilitar la absorción de hierro (Frossard y col., 2000). El AsA es un compuesto con propiedades antioxidantes cuya deficiencia puede ocasionar escorbuto. A pesar de que las deficiencias de vitamina C son poco comunes en la actualidad, se ha observado que un incremento en su consumo posee importancia en la prevención de ciertas enfermedades y desórdenes (Carr y Frei, 1999; Hancock y Viola, 2005). El consumo diario recomendado de vitamina C se ubica en los 75 mg para adultos, mientras que en jóvenes debe incrementarse a 90 mg (Levine y col., 2001). La concentración de vitamina C en frutas y hortalizas depende del producto considerado (Noctor y Foyer, 1998) y varía entre 1 y 150 mg por 100 g de peso fresco (Lee y Kader, 2000). Muchos frutos de origen tropical son ricos en vitamina C. La rosa mosqueta y guayaba poseen niveles extremadamente elevados de vitamina C. Otras buenas fuentes de este componente incluyen al caqui, kiwi, pimiento, cítricos, frutilla, brócoli, repollo y espinaca. Si bien el tomate no se encuentra dentro de los productos con niveles más altos de vitamina C, su contribución a la dieta es elevada debido a los altos niveles de consumo respecto a otras hortalizas. El contenido de ácido ascórbico en tomate es 12,7 mg cada 100 g de peso fresco aunque muestra variaciones dependiendo de la variedad y estado de madurez. Aún para una misma variedad y estado de desarrollo el contenido de vitamina C es altamente variable según las condiciones ambientales durante el cultivo (Lee y Kader, 2000). Un factor ambiental importante en la determinación de los niveles de vitamina C en frutos es la intercepción de radiación. En general cuando mayor es la radiación recibida, más elevado resulta el contenido de vitamina C. La retención de

la vitamina C también es afectada marcadamente por las condiciones de almacenamiento y procesamiento. En términos generales, el nivel de vitamina C disminuye durante el almacenamiento y estas pérdidas se incrementan en condiciones de almacenamiento no refrigerado. El adecuado manejo poscosecha es fundamental para evitar caídas abruptas en sus niveles (Olías y col., 1998). El daño mecánico y los golpes también incrementan las pérdidas de vitamina C. El ácido ascórbico es altamente susceptible a la oxidación (Sanmartin y col., 2007). La cocción de los productos también puede provocar grandes pérdidas por lavado u oxidación.

El color del tomate es impartido por carotenoides. En numerosas flores y frutos son componentes responsables del color rojo, amarillo o naranja. Los carotenoides son compuestos liposolubles sintetizados por plantas y microorganismos, pero no por humanos. En plantas poseen funciones vinculadas con la intercepción de la radiación principalmente en la región azul y verde que puede ser transferida a los centros fotosintéticos (Kopsell y Kopsell, 2006). A su vez éstos protegen a las estructuras fotosintéticas del exceso de radiación (Grusak y Della Penna, 1999). Químicamente son terpenoides formados por ocho unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) derivadas del isopentenil di-fosfato. Dentro de este grupo se encuentran 2 clases de compuestos: los carotenos que contienen C e H (e.j.  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno, etc.) y derivados oxigenados conocidos como xantófilas (ej. luteína, violaxantina y zeaxantina). A la fecha se han identificado más de 600 carotenoides diferentes, aunque unos pocos son los más comúnmente presentes en frutas y hortalizas en cantidades apreciables. Usualmente se encuentran en pequeña concentración, pero su contenido es altamente variable de acuerdo a la especie considerada. Dentro de los vegetales que poseen elevados niveles de carotenoides se destacan el zapallo, zanahoria, pimiento y tomate. Su distribución dentro de los productos no es comúnmente uniforme sino que se acumulan preferencialmente en la piel (Rodríguez-Amaya, 2001). La importancia de los carotenoides en la nutrición humana se ha centrado principalmente en aquellos que poseen actividad pro-vitamina A. En Estados Unidos las frutas y hortalizas contribuyen con un 30% de la vitamina A en la dieta (Hiza and Bente, 2007). La vitamina A posee un importante rol en la visión, división y diferenciación celular desarrollo óseo y reproducción. El requerimiento promedio de un adulto se estima en 3.000 unidades internacionales. Aquellos carotenoides que poseen un anillo  $\beta$ - no sustituido con una cadena de 11 C poseen actividad pro-vitamina A (Meléndez-Martínez y col., 2007; Kopsell y Kopsell, 2006). Este requerimiento estructural es satisfecho por unos 60 carotenoides dentro de los cuales se encuentran el  $\alpha$ -

caroteno,  $\beta$ -caroteno y la criptoxantina (Rodríguez-Amaya, 2001). En el tomate maduro el carotenoide mayoritario es el licopeno, que representa aproximadamente un 83% del total. Este componente no posee actividad pro-vitamina A, por lo que sus beneficios en la salud se encuentran asociados con su capacidad antioxidante. Otros carotenoides presentes en tomate incluyen al  $\beta$ -caroteno, entre un 3-7%,  $\gamma$ -caroteno, fitoeno, fitoflueno, que sí poseen actividad pro-vitamina A. El contenido en licopeno aumenta con la maduración de los tomates y se ubica alrededor de 3 mg cada 100 gramos. No obstante, sus niveles pueden presentar grandes variaciones según la variedad y condiciones del cultivo. El contenido de licopeno es menor en frutos que se recolectan verdes y maduran en almacén en comparación con los frutos madurados en planta.

Los fenoles constituyen un grupo heterogéneo que agrupa a más de 10.000 compuestos. Son abundantes en ciertos grupos de frutos como los '*berries*' pero en tomate se encuentran en pequeña proporción. De todos modos se ha observado que la síntesis de estos compuestos puede favorecerse ante condiciones de estrés moderado, lo que puede traducirse en una acumulación de componentes con capacidad antimicrobiana. (Booker y Miller, 1998; Sanderman y col., 1998).

Finalmente los minerales constituyen aproximadamente un 6% de la materia seca, siendo el potasio el más abundante (Tabla 2).

#### **3.3.4. Fisiología y maduración**

Desarrollo de frutos: El proceso de desarrollo de los productos fruti-hortícolas puede dividirse en términos generales en: crecimiento, maduración y senescencia. En algunos productos existe superposición entre las etapas de crecimiento y maduración, pero en tomate las mismas se encuentran claramente delimitadas. El crecimiento es el aumento del volumen de las células hasta que se alcanza el tamaño final del producto y se inicia inmediatamente luego del cuajado de los frutos. Por su parte la maduración comienza luego de que el desarrollo de las semillas ha finalizado e involucra la adquisición de las características deseables para el consumo (Gillaspy y col., 1993). En tomate esto coincide con el estado conocido como verde maduro y que se reconoce debido a que si bien el fruto se encuentra aún superficialmente de color verde, al realizar un corte el desarrollo de gel ha ocurrido al menos en forma completa en uno de los lóculos. En este estado se considera que el fruto ha llegado a 'madurez fisiológica'. Esto significa que si fuera separado de la planta madre podría madurar completamente, por lo que el estado verde maduro constituye el mínimo grado de desarrollo necesario para realizar la cosecha. Por el contrario, la separación de los frutos de la planta con anterioridad a

esta etapa redundaría en frutos incapaces de continuar su proceso de maduración en forma normal. En tomates de larga vida, la maduración normal se ve severamente afectada cuando los frutos se cosechan en el estado verde maduro, por lo que la mínima madurez de cosecha para estos tipos de tomate corresponde al estadio rojo claro (60% de la superficie de la fruta muestra un color rosa-rojo).

Los principales cambios que ocurren durante la maduración incluyen modificaciones en la acidez (que se incrementa en estados intermedios reduciéndose hacia el final de la maduración), la biosíntesis de aromas, la acumulación de azúcares simples, el desarrollo del color rojo característico (como consecuencia de la acumulación de licopeno, principalmente, y la degradación de clorofila) (Hulme, 1971). Durante este último proceso los cloroplastos se transforman en cromoplastos, estructuras formadas por glóbulos y un sistema membranoso en donde se concentran carotenoides y xantófilas. Otra modificación importante asociada a la maduración es el ablandamiento. Los cambios en la textura de los frutos se asocian con alteraciones en las paredes celulares. En general se observa conforme progresa el desarrollo de los frutos un incremento en la hidratación de los polisacáridos y la degradación de la laminilla media (capa rica en compuestos de naturaleza péctica que forman la interfase entre células vecinas) que provoca una reducción en la adhesión célula-célula. Muchos polímeros de la pared sufren (principalmente pectina y hemicelulosa) procesos de depolimerización y solubilización (Rose y col., 2003). En la celulosa, por lo general no se observan cambios importantes asociados con el ablandamiento. Todas estas modificaciones en los componentes de pared se atribuyen a la acción de diversas proteínas presentes en el apoplasto tales como galactosidasa (Smith y col., 1998) poligalacturonasa (Cantú y col., 2008), pectato liasa (An y col., 2005), endoglucanasa (Fisher y Bennett 1991); pectin-metilesterasa (Tieman y Handa, 1994) y expansinas (Rose y col., 2003) entre otras.

*Actividad respiratoria y producción de etileno:* La respiración es el proceso por el cual diferentes componentes orgánicos (principalmente azúcares) son oxidados a compuestos más sencillos ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ) consumiendo oxígeno y con una consecuente liberación de energía (Kader, 2002). Parte de esta energía se elimina como calor, pero una fracción importante se almacena bajo la forma de ATP para su utilización en otras reacciones metabólicas. La tasa respiratoria es el parámetro que mejor correlaciona con la vida poscosecha de los productos. Así por ejemplo productos como tomate con tasas respiratorias moderadas ( $10\text{-}20 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) muestran una capacidad de almacenaje más elevada que frutos con alta tasa

respiratoria como frutilla ( $50 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). La actividad respiratoria en frutos muestra también variaciones según el estado de desarrollo considerado. En tomate la respiración aumenta del estado verde maduro al rosado, luego comienza a disminuir progresivamente hacia el final del proceso de maduración. Este pico respiratorio se conoce como climaterio (Hobson, 1993).

El etileno es una hormona vegetal que desencadena los procesos de maduración y senescencia en los frutos (Abeles y col, 1992). La producción de etileno en tomate muestra un patrón similar al descrito para la tasa respiratoria con un pico en estados intermedios de maduración para volver a descender en estados avanzados (Hobson, 1993). Por esto al tomate se lo clasifica como climatérico. Estos frutos pueden cosecharse cuando han alcanzado su pleno desarrollo en la planta pero no han comenzado a madurar (Tucker, 1993). Por el contrario, frutos no-climatéricos como frutilla no producen durante su desarrollo picos de respiración o producción de etileno; este tipo de fruto solo madura en la planta, y si se lo cosecha antes de la maduración plena disminuye su calidad como alimento. En frutos climatéricos el etileno juega un rol central en la regulación del proceso de maduración (Tucker, 1993). Por lo tanto, la realización de tratamientos con etileno puede utilizarse para acelerar la velocidad de maduración en caso de ser necesario. Del mismo modo, el control de la producción de etileno de los frutos o bien la limitación de su exposición a atmósferas ricas en este gas, permiten retrasar los cambios asociados al proceso de maduración.

### **3.3.5. Aspectos generales de calidad y tecnología poscosecha de tomate**

Las pérdidas cuantitativas en poscosecha de frutas y hortalizas, son variables dependiendo del producto considerado, pero se estima que en países no desarrollados las mismas pueden llegar a un 50% del volumen total de producción (Kader, 2005). Uno de los principales objetivos de la tecnología poscosecha consiste en reducir estas pérdidas y mantener la calidad del producto comercializable desde la cosecha hasta su llegada a los consumidores (Salunkhe y Desai, 1984; Kader, 2003). Con este fin se han desarrollado diferentes tecnologías incluyendo la refrigeración, atmósferas modificadas y controladas, y la aplicación de químicos (Kader, 2002). En cuanto a la temperatura de conservación los tomates son sensibles al daño por frío a temperaturas inferiores a  $10^\circ\text{C}$  si se les mantiene en estas condiciones por 2 semanas o a  $5^\circ\text{C}$  por un período mayor a los 6-8 días. Los síntomas del daño por frío incluyen la maduración anormal, incapacidad para

desarrollar completamente el color, formación de depresiones en la superficie, pardeamiento de las semillas e incremento de pudriciones (especialmente por *Alternaria* sp). Si bien se debe entonces evitar almacenar los frutos de tomate por debajo de 10°C por periodos prolongados, la refrigeración por encima de esa temperatura resulta de utilidad ya que permite reducir la tasa respiratoria, la producción de etileno (Tabla 3), los cambios asociados con la maduración y el desarrollo de microorganismos.

**Tabla 3:** Actividad respiratoria y producción de etileno en frutos de tomate verde maduro a diferente temperatura (Suslow y Cantwell, 2006). ND: No determinado.

Temperatura	Act. Respiratoria (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Etileno (μL kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
10°C	6-9	1,2-1,5
15°C	8-15	ND
20°C	14-22	4,3-4,9
25°C	18-26	ND

Si por el contrario se desea acelerar la maduración se recomienda colocar los frutos a temperaturas cercanas a 20-25°C con una humedad relativa de 90-95% y en presencia de etileno (100 ppm). A esta temperatura el desarrollo de color es óptimo. Debe mantenerse una buena circulación de aire para asegurar uniformidad en la temperatura del cuarto de maduración y prevenir la acumulación de CO<sub>2</sub> (a más del 1%) ya que retarda la acción del etileno. Los tomates madurados a temperaturas superiores a 25°C desarrollan un color más amarillo y menos rojo y son más blandos, mientras que a 35°C el proceso de maduración se ve inhibido. El etileno puede aplicarse en poscosecha en cámaras de maduración a partir de la inyección de dicho gas o bien mediante su producción *in situ* por generadores catalíticos (que lo producen por deshidratación del etanol). En precosecha existe la posibilidad de realizar aplicaciones de ácido cloro-etil fosfónico (marcas comerciales Ethrel 48 SL, Teacher) que libera etileno al entrar en contacto con los tejidos del fruto. Este producto resulta útil sobre fines del cultivo cuando las temperaturas bajas retrasan excesivamente la maduración pero en otras etapas de producción su utilización es limitada, debido que causa defoliación de las plantas.

Otras tecnologías poscosecha que se han evaluado en tomates incluyen a las atmósferas modificadas (AM) y controladas (AC). Las bajas concentraciones de O<sub>2</sub> (3-5%) retrasan la maduración y el desarrollo de pudriciones en la cicatriz del

pedúnculo y en la superficie sin afectar severamente la calidad sensorial. Se ha logrado extender el período de almacenamiento utilizando una combinación de 4% O<sub>2</sub>, 2% CO<sub>2</sub> (Suslow y Cantwell, 2006). En ciertos casos la utilización de atmósferas con 5% CO ha mostrado efectos beneficiosos (Suslow y Cantwell, 2006). De todas maneras no se utiliza debido a la alta peligrosidad de este gas. La mayoría de los cultivos no toleran elevadas concentraciones de CO<sub>2</sub> (superiores al 3-5%); estas condiciones producen daño. Las concentraciones muy bajas de O<sub>2</sub> (1%) provocan sabores desagradables, olores objetables y otras anormalidades como pardeamiento interno. Las atmósferas controladas no se utilizan con frecuencia debido a su elevado costo con respecto a los beneficios que pueden obtenerse.

Los tomates son sensibles a muchas alteraciones que se pueden originar por prácticas de producción o por la interacción entre ellas y factores genético-ambientales. Algunos ejemplos son la podredumbre apical asociada con deficiencias de calcio. Algunas fisiopatías suelen manifestarse en poscosecha, durante las operaciones de inspección o maduración, como la aparición de grietas concéntricas o radiales, el color verde persistente en los hombros y la aparición de áreas grisáceas en las paredes internas que separan los lóculos.

Las enfermedades son una causa importante de pérdidas poscosecha. Generalmente las pudriciones y lesiones de la superficie son ocasionadas por ataque de hongos fitopatógenos como *Alternaria* (pudrición negra), *Botrytis* (moho gris) *Rhizopus* (pudrición algodonosa) y en menor medida por *Geotrichum* (pudrición ácida). Una medida importante para reducir la incidencia de enfermedades consiste en evitar el daño mecánico durante las operaciones de cosecha, embalado y transporte. El lavado con hipoclorito de sodio (100-200 ppm, pH 6,5-7,5) permite reducir la carga de inóculo (Kader 2002). La refrigeración por su parte a temperaturas superiores a las de daño por frío, retrasa el crecimiento de microorganismos.

La utilización de productos que retrasan la maduración permite reducir la incidencia de enfermedades de poscosecha. Un producto aprobado en la Argentina para su uso en poscosecha es el 1-metilciclopropeno (1-MCP, nombre comercial SmartFresh). El 1-MCP es un inhibidor de la acción del etileno (Sisler y Serek 1999). El mismo se une a los receptores de la hormona inhibiendo las respuestas asociadas con su acción (Sisler, 2006). Los tratamientos con 1-MCP son efectivos para retrasar la maduración y la incidencia de ciertos desórdenes fisiológicos en frutos (Candán y col., 2006; Selvarajah y col., 2001; Calvo y Sozzi, 2004). A

temperatura ambiente y presión atmosférica el 1-MCP es un gas (Watkins, 2006). En la forma comercial se encuentra asociado a una matriz sólida, que lo hace un producto más manejable, y el principio activo se libera adicionando agua al polvo comercial (Blankenship y Dole, 2003). Durante los tratamientos, los frutos se mantienen en contacto con el 1-MCP liberado en la concentración deseada en un recipiente hermético (Manganaris y col., 2008). Recientemente se han evaluado formulaciones que permiten la realización de tratamientos con 1-MCP en forma líquida por inmersión (Manganaris y col., 2007) o bien mediante pulverizaciones en la precosecha (Yuan y Carbaugh, 2007) aunque aún no se encuentra aprobado en nuestro país. En tomates verdes, la maduración es marcadamente retrasada mediante la realización de tratamientos con 1-MCP en concentraciones entre 0,1–100  $\mu\text{L L}^{-1}$  siendo los efectos observados dependientes de la concentración y tiempo de tratamiento (Wills y Ku, 2002). El grado de retraso depende, en tomate, de la concentración utilizada, del tiempo de tratamiento y del estado de madurez (Watkins, 2006). El estado de desarrollo en el que se realizan los tratamientos parece ser crucial ya que frutos verde maduros o virados muestran podredumbres y deshidratación antes de completar la maduración, lo que resulta indeseable desde el punto de vista tecnológico (Hurr y col., 2005). Mostofi y col. (2003) también hallaron que el tratamiento de frutos verde maduros ocasionó luego de la maduración un menor desarrollo de color y a su vez este proceso ocurrió en forma desacoplada con el ablandamiento. De todos modos, si los tratamientos se realizan en frutos en estado rojo claro, la maduración es aún retrasada (reduciéndose el ablandamiento y la incidencia de enfermedades de poscosecha) pero no totalmente inhibida (Franco Lorda, 2008).

#### **3.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE FRUTILLA**

La frutilla es un fruto agregado, en el que los frutos verdaderos o aquenios, cada uno conteniendo una semilla en su interior, se ubican sobre un receptáculo engrosado que constituye principalmente la parte comestible (Manning, 1993). Las características consideradas a la hora de determinar la calidad de frutilla incluyen la apariencia (a la cual contribuye el color, forma), la firmeza, sabor (principalmente dada por el contenido de azúcares, acidez y compuestos aromáticos). Los niveles deseables para lograr sabor aceptable se ubican en un 7% de sólidos solubles y un máximo de 0,8% de acidez (Mitcham y col., 2002). La cosecha de frutilla no puede adelantarse en demasía debido a que la acumulación de azúcares ocurre hasta bien avanzada la maduración. Consecuentemente la cosecha prematura (frutos con

menos de 75% de color superficial rojo) redundando en una pérdida importante de calidad organoléptica (Mitcham y col., 1996). Desde el punto de vista nutricional la frutilla es una buena fuente de vitamina C ( $57 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ) y de otros antioxidantes de naturaleza fenólica. Desde el punto de vista de su comportamiento poscosecha, se trata de un producto extremadamente perecedero, siendo los principales factores causantes del deterioro: el ablandamiento excesivo y el ataque de *Botrytis cinerea* (Kader, 2002). Si bien por tratarse de un fruto no climatérico el etileno no estimula los cambios asociados a la maduración de frutilla, la eliminación del mismo de las atmósferas de almacenaje resulta favorable, pues permite reducir el desarrollo de hongos (Kader, 2002). Los frutos presentan una elevada tasa respiratoria ( $50 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ ) por lo que la rápida refrigeración luego de la cosecha es altamente recomendada para disminuir la tasa metabólica, mantener la calidad y extender la vida poscosecha (Mitchell y col., 1996; Mitchell, 2000). El almacenamiento a  $0^\circ\text{C}$  permite extender la vida de los frutos significativamente. Si la refrigeración se realiza a su vez en condiciones de humedad relativa elevada (90-95% pero sin que ocurra condensación sobre la superficie de los frutos), el almacenamiento puede prolongarse entre 10 y 14 d (Vicente y Sozzi, 2007). Por su parte, la utilización de atmósferas modificadas (AM) en el embalaje, previo al embarque, con 10 a 15% de dióxido de carbono reduce el crecimiento de *Botrytis cinerea* (podrición por moho gris) y la tasa de respiración por lo que también resulta de utilidad para extender la vida poscosecha de los frutos (Watkins y col., 1999; Holcroft y Kader, 1999 a,b). En el caso de envases pequeños se pueden seleccionar películas plásticas apropiadas que permitan acumular parte del  $\text{CO}_2$  producido por la propia actividad respiratoria de los frutos.

A pesar de la existencia de todas estas estrategias para extender la vida poscosecha de frutilla, las pérdidas poscosecha siguen siendo altas por lo que una elevada proporción de frutos no llega al mercado o debe destinarse a la producción de mermeladas, yogures o salsas (Vicente y col., 2005a). Diversas metodologías han sido evaluadas a fin de complementar los beneficios de la refrigeración como las atmósferas modificadas, los tratamientos térmicos de alta temperatura (Vicente y col., 2002, 2003), las estrategias de control biológico (Helbig, 2002; Karabulut y col., 2004; Pratella y Mari, 1993), la irradiación UV-C (Pan y col., 2004). Algunos tratamientos poscosecha de común aplicación en otros frutos como el lavado con soluciones de hipoclorito de sodio no resultan recomendables en frutillas ya que la permanencia de agua libre entre los aquenios favorece el desarrollo de hongos. El ozono ha sido utilizado para la desinfección de productos y equipos en la industria

alimentaria ya sea en solución o bien en fase gaseosa. En ese sentido, si bien podría pensarse *a priori* que el uso de ozono en fase gaseosa en frutillas podría resultar de particular interés como estrategia para reducir la carga microbiana, los resultados obtenidos a la fecha resultan ambiguos. En frutilla, Pérez y col., (1999) hallaron que frutos mantenidos en atmósferas conteniendo  $0,35 \mu\text{L L}^{-1}$  de ozono por 3 días presentaron menor ataque de *Botrytis cinerea* que los control. De todos modos, luego se almacenaron a  $20^{\circ}\text{C}$ , y al cabo de 4 días se observó una igual tasa de proliferación de hongos en los frutos control y tratados.

### **3.5. CARACTERÍSTICAS Y USOS DEL OZONO**

#### **3.5.1. Generalidades, ventajas y desventajas de su uso**

En los últimos años existe una elevada preocupación de los consumidores respecto a la inocuidad de los productos fruti-hortícolas, así como un incremento en las exigencias de calidad de los mismos (Klein y Lurie, 1991). Esto ha aumentado la necesidad de encontrar métodos alternativos en el manejo de productos. Diversos tratamientos como la aplicación de altas temperaturas por períodos cortos (Lurie, 1998), la exposición a radiación UV-C (Civello y col., 2006; Costa y col., 2006; Vicente y col., 2005b) y la utilización de ozono (Pascual y col., 2007; Khade y Yousef, 2001) resultan de interés como alternativas o complemento de los tratamientos tradicionales. El ozono es un compuesto con capacidad antimicrobiana tanto en fase gaseosa como disuelto en medio líquido. En solución pueden realizarse tratamientos por inmersión o bien por asperjado. En forma gaseosa se usa para cámaras de almacenamiento. Se ha descrito que el mismo puede inhibir la mayor parte de bacterias, hongos, levaduras, parásitos y virus (Kim y col., 2003; Khadre, 2001a).

#### Ventajas de su uso

- ❖ Es tan efectivo como el cloro en la destrucción de bacterias y virus y su actividad germicida se encuentra poco influenciada por el pH.
- ❖ Se descompone rápidamente no dejando residuos peligrosos. Tiene una vida media de 15-20 minutos en agua limpia y menos de 1 min en agua con partículas orgánicas en suspensión.
- ❖ Es generado *in situ*, no habiendo problemas con el transporte y almacenamiento.
- ❖ Eleva el nivel de oxígeno disuelto en los efluentes, eliminando la necesidad de re-aireación.

- ❖ Puede usarse en estado gaseoso en cámaras de almacenamiento.

#### Desventajas de su uso

- ❖ Bajas dosis no inactivan virus, esporos ni protozoos.
- ❖ Tecnologías y equipos de generación y tratamiento son más complicados que en la cloración o el tratamiento UV.
- ❖ Muy reactivo y corrosivo, requiere materiales resistentes a la corrosión como acero inoxidable.
- ❖ Debido a que los compuestos orgánicos en el agua causan una demanda de ozono, no es rentable para el tratamiento de aguas residuales con altos niveles de sólidos en suspensión, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno y carbón orgánico total.
- ❖ El gas es irritante y tóxico para el organismo, a partir de 10 ppm, pero es detectable por el olfato humano a concentraciones entre 0,02-0,05 ppm. El gas residual del respectivo tratamiento debe ser destruido para prevenir el contacto con los trabajadores.
- ❖ No deja residuos como el cloro para indagar la eficacia de la desinfección.
- ❖ El costo del tratamiento puede llegar a ser relativamente alto en capital y energía, dada su rápida descomposición, especialmente en aguas con partículas orgánicas en suspensión.
- ❖ Es moderadamente soluble en agua ( $570 \text{ mg L}^{-1}$  a  $20^{\circ}\text{C}$ ). Su solubilidad es mayor que la del oxígeno, pero menor (12 veces) que la del cloro.

#### **3.5.2. Generación y medición de ozono**

De forma natural se produce en la estratósfera por radiación UV, y en la troposfera por rayos durante las tormentas eléctricas o por contaminación urbana asociado a efectos fotoeléctricos. Posee una entalpía de formación elevada ( $+142,3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), por lo cual para su generación se necesita suministrar una elevada cantidad de energía. En los ozonizadores se utiliza un sistema de dos electrodos con alto voltaje entre ellos, del orden de miles de voltios, y un flujo de aire u oxígeno puro que fluye entre ellos a un caudal determinado. El flujo de electrones entre los electrodos provee la energía necesaria para la formación de las moléculas de ozono a partir del oxígeno. El ozono puede aplicarse al agua utilizando difusores para generar agua ozonizada o bien en estado gaseoso. El ozono residual se elimina

térmicamente a temperaturas mayores a 350°C, catalíticamente operando a 100°C o bien haciéndose reaccionar con algún otro compuesto (ej. KI). El control de la concentración de ozono puede realizarse por absorción UV, con un máximo de absorción en 253,7 nm. Con el método iodométrico puede medirse directamente valorando con tiosulfato de sodio el yodo generado por su reacción con KI. El método de referencia para el ozono atmosférico es la quimioluminiscencia, que se basa en la reacción con el etileno en fase gaseosa.

### **3.5.3. Usos del ozono**

a-Desinfección de equipos: Inicialmente sólo se permitía su uso para la desinfección de las maquinarias y equipos y para la esterilización de agua. Además retrasa la germinación de esporas y el desarrollo de hongos (Khadre, 2001b; Khan y Khan, 1999).

b-Tratamiento de agua: El ozono ha sido y es utilizado en el tratamiento de aguas con diversos objetivos:

-Oxidación de compuestos inorgánicos: El ozono puede utilizarse para oxidar algunos componentes inorgánicos incluyendo hierro, manganeso y sulfuros. Los iones  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Mn}^{+2}$  se oxidan a  $\text{Fe}^{+3}$  y  $\text{Mn}^{+4}$ . Luego el óxido de manganeso y el hidróxido férrico forman precipitados fácilmente eliminables por filtración o decantación evitando el enturbiamiento de las aguas.

-Oxidación de micro-contaminantes orgánicos: En algunos casos el ozono se ha utilizado para la oxidación de compuestos que puedan aportar al agua colores y olores desagradables así como para la destrucción de ciertos detergentes y contaminantes fenólicos.

-Degradación de agroquímicos: En el caso de los pesticidas, por ejemplo el paratión a una concentración de 873 mg L<sup>-1</sup> se puede eliminar completamente con tratamientos con una concentración de 5 ppm de ozono. El aldrín a una concentración de 20 mg L<sup>-1</sup> se degrada un 95% en una disolución de 3,7 ppm de ozono.

-Oxidación de macro-contaminantes orgánicos: En el tratamiento de efluentes el ozono puede incrementar la biodegradación de los compuestos orgánicos, reduciendo la demanda de cloro.

-Inactivación de microorganismos y algas: En bacterias provoca la oxidación de glicolípidos y glicoproteínas de la membrana celular, la inactivación de enzimas y puede actuar en el núcleo destruyendo el ADN. También resulta útil para la eliminación y control de las algas y el reverdecimiento de las aguas. De hecho el ozono es tan efectivo como el cloro en la destrucción de bacterias y virus.

c. Purificación del aire: Otro uso del ozono es la purificación de aire. De todos modos algunos beneficios sugeridos por comercializadores de generadores para la purificación de aire no parecen estar demostrados científicamente. En primer lugar para muchos compuestos la reacción con el ozono puede ser lenta y tomar meses (Boeniger, 1995). En otros casos la reacción del ozono con ciertos compuestos puede dar lugar a productos irritantes (Weschler, y col., 1992b; Weschler and Shields, 1996). En tercer lugar el ozono no remueve partículas como polen o polvo que en muchos casos son las responsables de alergias. Por último, si se utiliza en concentraciones que no exceden los límites de exposición en humanos, el ozono no remueve efectivamente virus, bacterias, hongos o contaminantes comunes. En resumen, la EPA (Environmental Protection Agency) sugiere utilizar métodos probados para el control de la contaminación de aire, tales como eliminar las fuentes de contaminación, incrementar la ventilación (EPA, 2007).

#### d. Poscosecha de frutas y hortalizas

A mediados de los noventa el ozono fue aprobado para el procesamiento de alimentos en Francia, Australia y Japón. En el año 2001 fue reconocido como GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA (Food and Drug Administration) y la USDA (United States Department of Agriculture) siendo aprobado su uso en carnes, productos orgánicos y de alimentos en general durante el almacenamiento y procesamiento. Desde entonces los estudios sobre el uso del ozono en la industria alimenticia han aumentado marcadamente. En ciertos casos el ozono ha sido utilizado en sanitización como alternativa al hipoclorito de sodio (Pascual y col., 2007; Suslow, 2004). Los tratamientos con ozono han mostrado ser eficaces en diversos productos horti-frutícolas. Su uso toma aún más interés en el caso de productos orgánicos donde el abanico de posibilidades para la realización de tratamientos de poscosecha es limitado. Con respecto al modo de aplicación, el ozono ha sido utilizado en la mayor parte de los casos en solución en aguas de lavado, aunque algunos estudios han mostrado que la

exposición continua a bajas concentraciones de ozono gaseoso durante el almacenamiento, puede también ser de utilidad para reducir la incidencia de enfermedades. En ciertos casos se ha evaluado con buenos resultados la exposición de ozono en forma continua durante el almacenamiento refrigerado (Pascual y col., 2007). Efectos beneficiosos de tratamientos con ozono han sido reportados en diferentes productos como zarzamora (Barth y col., 1995), uva (Sarig y col., 1996) zanahoria (Liew y Prange 1994) cítricos (Palou y col., 2001) y duraznos (Palou y col., 2002) entre otros. En la mayor parte del los trabajos se observó una reducción en la incidencia de enfermedades, aunque el lavado de frutas con agua ozonizada también se ha utilizado con otros objetivos, como la eliminación de pesticidas que puede portar la fruta en su superficie (Ong y col., 1996). Por ejemplo, en manzana, tratamientos con 3 ppm de ozono fueron efectivos en la remoción de residuos del fungicida mancozeb (Hwang y col., 2002). No obstante, no todos los estudios realizados a la fecha muestran efectos favorables como consecuencia de los tratamientos con ozono. En ciertos casos no se encontraron diferencias entre frutos tratados y control (Palou y col., 2002) o incluso los tratamientos causaron efectos negativos (Pérez y col., 1999; Rice y col., 1982; Schraudner y col., 1998; Pascualini y col., 2003). Los distintos resultados descritos en la literatura podrían deberse a diferencias en la sensibilidad y respuesta de los productos o bien a distintas condiciones utilizadas en la realización de los tratamientos. Este es un aspecto que requiere ser explorado en mayor profundidad. Por lo tanto en el presente trabajo se intentará seleccionar un tratamiento con ozono adecuado para mantener la calidad y extender la vida poscosecha de tomate y frutilla.

## **4. Materiales y métodos**

#### **4.1. MATERIAL VEGETAL Y SELECCIÓN DE TRATAMIENTOS**

Se cosecharon tomates (*Solanum lycopersicum*) en estado de maduración virado y se trasladaron inmediatamente al laboratorio. Los frutos fuera de tipo, o con presencia de defectos se eliminaron. Luego se colocaron en una cámara hermética que se conectó a un equipo generador de ozono (Dobzono, modelo Ozolab100). El nivel de ozono en el recipiente se controló con un sensor equipado con un semiconductor de óxidos de metales (DCMIV, International Xilix SA Argentina) y se mantuvo en una concentración de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$ . Los frutos permanecieron dentro de la cámara por diferentes períodos de tiempo (5, 10 y 20 min). Finalizado el tratamiento, se colocaron en bandejas plásticas y se almacenaron a  $20^{\circ}\text{C}$ . Correspondientes frutos control, sin tratamiento con ozono, se colocaron en bandejas y se almacenaron directamente a  $20^{\circ}\text{C}$ . Durante el período de almacenamiento se analizó la evolución del ataque de patógenos (% de frutos atacados). En función de los resultados obtenidos se seleccionó el mejor tratamiento con el cual se realizaron los ensayos subsiguientes.

#### **4.2. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON OZONO SOBRE LA CALIDAD DE TOMATE**

Se trataron frutos de tomate en estado rojo claro con ozono de acuerdo al tratamiento seleccionado en 4.1. Finalizado el tratamiento los frutos se colocaron en bandejas plásticas, y se almacenaron a  $20^{\circ}\text{C}$  por 9 d. Correspondientes frutos control sin tratamiento con ozono se colocaron en bandejas y se almacenaron directamente a  $20^{\circ}\text{C}$  por 9 d. Durante este período (0, 2, 6 y 9 d) se determinó la calidad de los frutos frescos o bien se tomaron muestras que se congelaron en  $\text{N}_2$  líquido y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Las muestras para el análisis se obtuvieron de manera de asegurar una adecuada proporción de pared en relación al jugo locular (cortes radiales). Las partes de desecho no comestibles (centro y parte apical) fueron excluidas. Se analizaron 20 frutos para cada tiempo de almacenamiento y tratamiento analizado. Se realizaron las siguientes determinaciones:

##### **4.2.1. Fenoles totales**

Aproximadamente 1 g de fruto congelado se procesó en 5 ml de etanol. La mezcla se homogeneizó y centrifugó a  $9.000 \times g$  por 10 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . La operación se realizó 2 veces. Los sobrenadantes resultantes se colectaron y se llevaron a 100 mL con agua. Los extractos se utilizaron para la determinación de fenoles totales. A un

mililitro y medio de extracto se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin-Ciocalteu (1N). Luego de 3 min a 25°C se agregó 1,5 mL de solución 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en  $\text{NaOH}$  0,1 N y la mezcla de reacción se incubó por 1 h. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento, tiempo de almacenamiento analizado y las determinaciones se realizaron por triplicado. Se midió la absorbancia a 760 nm y se calculó el contenido de compuestos fenólicos utilizando fenol como estándar. El contenido de fenoles totales se expresó como mg de fenol por kg de fruto.

#### **4.2.2. Pérdida de peso**

Los frutos se pesaron en una balanza granataria al comienzo del experimento, y durante el almacenamiento a 20°C. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso respecto al peso inicial.

#### **4.2.3. Firmeza**

Se utilizó un equipo Texture Analyzer (TA.XT2, Stable Micro Systems Texture Technologies, Scarsdale, NY), equipado con una sonda plana de 8 mm de diámetro. Los frutos se deformaron mediante un ensayo de penetración (6 mm) a una velocidad de 0,5  $\text{mm s}^{-1}$  y se registró la fuerza máxima efectuada durante el ensayo. A cada fruto se le efectuaron 3 mediciones en la zona ecuatorial del pericarpio.

#### **4.2.4. Color superficial**

El color superficial se determinó con un colorímetro (Minolta, Modelo CR-300). Se obtuvieron los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y a partir de éstos se calculó el ángulo Hue ( $\text{atan } b^*/a^*$ ). Se analizaron 20 frutos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### **4.2.5. Acidez y pH**

Los frutos congelados se procesaron en un molinillo y 10 g se colocaron en un vaso de precipitado. Se adicionaron 100 mL de agua y se determinó el pH. La acidez se determinó titulando con  $\text{NaOH}$  de normalidad conocida hasta pH 8,2 (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como meq.  $\text{H}^+$  por kg de fruto.

#### **4.2.6. Azúcares totales**

Se procesaron muestras congeladas en un molinillo y 1 g de fruto se extrajo con 5 mL de etanol. Los tubos se agitaron en vortex y se centrifugaron (10 min. a 12.000 x g a 4°C). Se colectó el sobrenadante y se realizó una segunda extracción

con 5 mL de agua. Se centrifugó (10 min. a 12.000 x g, 4°C) y se colectó el sobrenadante. Los sobrenadantes de ambas extracciones se combinaron y se llevó a 100 mL con agua. Para la determinación de azúcares se utilizó el método de la antrona (d'Amour y col., 1993). Se tomaron alícuotas de 50 µL de muestra y se adicionaron 450 µL de agua. Luego se agregó 1 mL de antrona (2 g de antrona por litro de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% p/p). Se realizó una curva de calibración utilizando glucosa como patrón. Los resultados se expresaron en gramos de glucosa por 100 g de fruto fresco.

#### **4.2.7. Capacidad antioxidante**

La capacidad para neutralizar radicales libres de los frutos se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Brand Williams y col., (1995). Muestras de 1 g de fruto congelado se procesaron en 5 mL de etanol y los tubos se agitaron en vortex y se centrifugaron a 9.000 x g por 10 min a 4°C. El sobrenadante se llevó a 100 mL con agua. Alícuotas del extracto etanólico (150, 300, 450, 600 µl) y agua en cantidad necesaria para llegar a 1 mL se adicionaron a tubos conteniendo 1 mL de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH') 0,025 g L<sup>-1</sup> en metanol. Se midió la absorbancia a diferentes tiempos con un espectrofotómetro (Modelo DU650, Beckman, Berkeley, CA, USA) hasta que no se observaron cambios en la absorbancia, de tal manera de hallar el tiempo de lectura para las posteriores determinaciones. Luego se trabajó de igual manera y se midió la absorbancia a 515 nm al cabo de 60 min de reacción. Se graficó el porcentaje de DPPH' remanente contra el volumen de extracto adicionado y se determinó la cantidad de tejido necesaria para reducir la concentración de DPPH' en un 50%, la que se definió como EC<sub>50</sub>. Las determinaciones se realizaron por triplicado. El poder antioxidante se expresó como EC<sub>50</sub><sup>-1</sup> (mg<sup>-1</sup>)

#### **4.2.8. Actividad respiratoria**

Los frutos se colocaron en un recipiente hermético y se incubaron por 15 min a 20°C. La producción de dióxido de carbono se determinó utilizando un sensor IR (ALNOR Compu-flow, Modelo 8650). Se calculó la actividad respiratoria a partir del volumen del recipiente, masa de los frutos, tiempo de incubación y acumulación de CO<sub>2</sub> y los resultados se expresaron como mL de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>. Se evitó una acumulación de CO<sub>2</sub> superior al 1% que pudiera inhibir la respiración. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **4.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON OZONO EN FRUTILLA**

Se trataron frutillas en estado de madurez comercial con ozono como se mencionó anteriormente por 2 o 5 min. Finalizado el tratamiento los frutos se colocaron en bandejas plásticas, y se almacenaron a 20°C por 2 d. Correspondientes frutos control sin tratamiento con ozono se colocaron en bandejas y se almacenaron directamente a 20°C por 2 d. Durante este período se determinó el porcentaje de frutos dañados y el color de cáliz y receptáculo como se describió en la sección 4.2.4. Se analizó la firmeza con un equipo Texture Analyzer (equipado con una sonda plana de 2 mm de diámetro). Los frutos se deformaron mediante un ensayo de penetración (2 mm) a una velocidad de 0,5 mm s<sup>-1</sup> y se registró la fuerza máxima efectuada durante el ensayo.

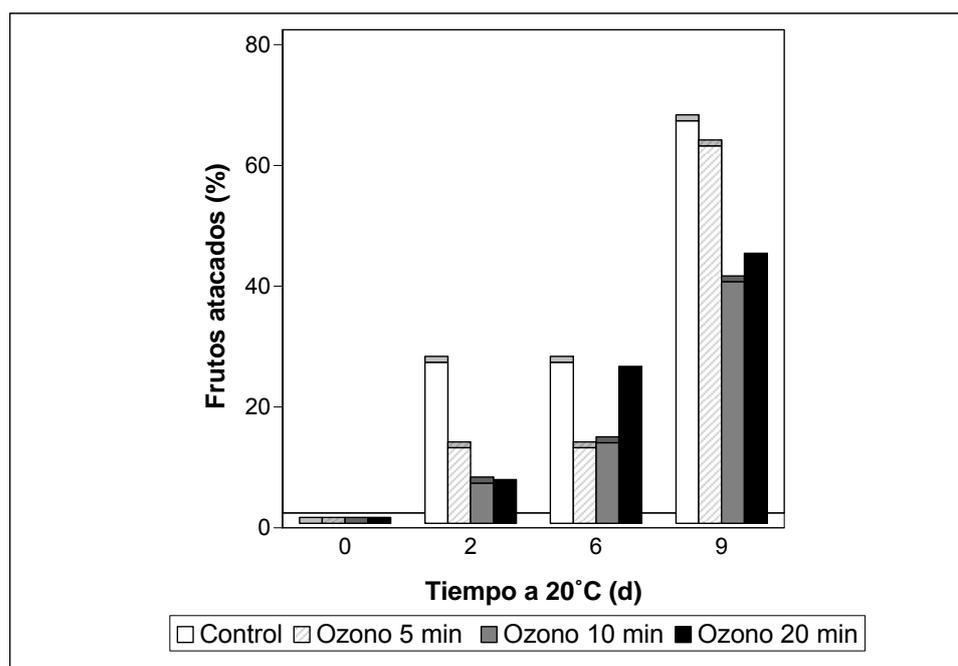
### **4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los experimentos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial. Los datos se analizaron por medio de ANOVA y las medias se compararon con el test de LSD a fin de determinar las diferencias mínimas significativas a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

## **5. Resultados y discusión**

## 5.1. SELECCIÓN DE TRATAMIENTOS

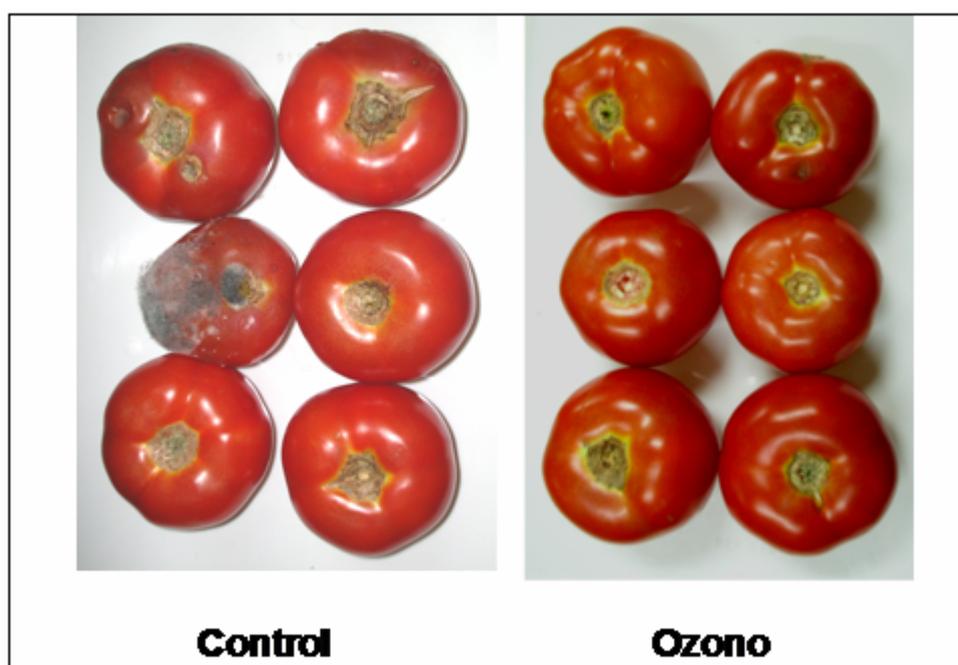
Como se mencionó anteriormente el ozono se utilizó inicialmente en la industria alimentaria para el tratamiento del agua y la desinfección de equipos industriales. Actualmente es considerado un producto GRAS (generalmente reconocido como seguro) por la FDA y la USDA. El uso de ozono en forma gaseosa se ha evaluado en algunos casos pero principalmente a muy bajas concentraciones y por períodos prolongados. Por ejemplo se han empleado ozonizadores en cámaras de refrigeración para reducir la carga microbiana en el ambiente y para oxidar el etileno. En cambio, los tratamientos cortos con ozono gaseoso han recibido menor atención. En el presente trabajo, en primera instancia, se evaluó el efecto de tratamientos con ozono en fase gaseosa ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) de diferente duración (5, 10 y 20 min) sobre la maduración e incidencia de hongos durante el almacenamiento poscosecha de tomate a  $20^\circ\text{C}$ . Todos los tratamientos redujeron la incidencia de patógenos durante todo el almacenamiento respecto al control (Figura 4).



**Figura 4:** Ataque de patógenos en frutos de tomate tratados con diferentes dosis de ozono y almacenados por 9 d a  $20^\circ\text{C}$ .

Las condiciones de exposición que mostraron mejores resultados fueron las de 10 y 20 min. De todos modos, no se observaron diferencias entre ambos tratamientos por lo que se seleccionaron debido a su menor tiempo operativo los tratamientos de 10 min para ulteriores ensayos. Este tratamiento permitió luego de 9 d de almacenamiento a 20°C reducir la incidencia de hongos en un 26% respecto al control mientras que los tratamientos de 5 y 20 min redujeron el 5% y 23% la incidencia de hongos con relación a los frutos no tratados respectivamente.

En la Figura 5 se muestra la apariencia de frutos de tomate control y tratados con ozono (10 min) y almacenados por 9 d a 20°C apreciándose un mayor desarrollo de hongos en los frutos control. El ozono es un oxidante fuerte cuyo uso en sanitización se ha incrementado en los últimos años. Los tratamientos con ozono han mostrado ser efectivos contra un amplio rango de organismos incluyendo protozoos, bacterias y hongos. La mayor parte de los trabajos realizados a la fecha han focalizado en el uso de agua ozonizada para tratamientos de lavado.



**Figura 5:** Apariencia de frutos de tomate control y tratados con ozono (10 min) y almacenados por 9 d a 20°C.

La reducción en la incidencia de enfermedades observada podría deberse a la disminución de la carga microbiana inicial de los frutos debido a un efecto directo del ozono. Con respecto a cual sería la forma activa asociada con la capacidad deletérea sobre microorganismos, algunos autores concluyen que el ozono molecular es la principal forma involucrada, aunque otros grupos sugieren que la actividad antimicrobiana podría deberse también a otros productos derivados de reacciones iniciales de este compuesto, como el anión superóxido o el radical hidroxilo. (Hunt y Marinas 1997). La inactivación microbiana por el ozono es compleja debido a que este compuesto es capaz de reaccionar con diferentes componentes celulares tales como proteínas estructurales, lípidos insaturados (con el consecuente daño en membranas, que puede provocar la lisis celular), componentes presentes en las paredes celulares, enzimas (afectando la actividad metabólica normal), y/o ácidos nucleicos (lo que puede afectar la expresión génica y/o la capacidad de división celular). La reacción del ozono con los ácidos nucleicos ha sido demostrada *in vitro* siendo la timina más susceptible que otras bases nitrogenadas (Scott 1975; Ishizaki y col., 1981). Estudios *in vivo* han mostrado una marcada disminución en la producción de esporas (<92%) de hongos en frutos mantenidos en atmósferas ricas en ozono, sugiriendo que este tipo de tratamientos también podría contribuir marcadamente a reducir los niveles de inóculo (Tzortzakis y col., 2007).

El ozono es en general más efectivo contra formas vegetativas que contra esporas (Khadre y col., 2001a). De todos modos se ha observado que también puede afectar a estas formas de resistencia. Dependiendo del tiempo de contacto y su concentración el ozono reduce la germinación de esporas. Así, por ejemplo, con dosis de ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) de  $\text{O}_3$  la germinación de esporas de *Botrytis cinerea* se reduce al 50% en 30 seg. (Smilanick, 1999).

Más allá del efecto directo del ozono sobre los microorganismos, existen además trabajos que muestran que los tratamientos con este compuesto, en ciertas circunstancias, pueden estimular la biosíntesis de compuestos antimicrobianos en los frutos o bien activar otros mecanismos de defensa que podrían contribuir a mejorar la respuesta de los mismos contra patógenos (Sanderman y col., 1998; Sharma y Davis, 1994). Por ejemplo, se ha descrito que en respuesta a la exposición a atmósferas ricas en ozono se produce una acumulación de flavonoides, capaces de reducir el desarrollo de microorganismos (Sandermann y col., 1998). Además se ha observado que pueden inducirse numerosos genes asociados a defensa (Langebartels y col., 2002; Sharma y Davis, 1994). Por ejemplo, en pimiento, se determinó que más de 180 genes incrementaron marcadamente su

expresión luego de tratamientos con ozono, muchos de los cuales representaban genes vinculados a transcriptoma de defensa a patógenos o condiciones de estrés abiótico como sequía o salinidad (Lee y Yun, 2006). Se ha descrito un incremento en los niveles de glucanasas, quitinasas y otras proteínas asociadas a patogénesis y diversos enzimas antioxidantes (peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa) en respuesta a este tipo de tratamientos (Sandermann y col., 1998). El estrés por ozono también ha mostrado inducir la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de componentes fenólicos como chalcona sintasa (Schraudner y col., 1998; Wohlgemuth y col., 2002; Pasqualini y col., 2003). El enzima estilbeno sintasa también relacionada en la biosíntesis de compuestos fenólicos (ej. resveratrol), es inducida por ozono y etileno (Sandermann y col., 1998). De todos modos la inducción por etileno y ozono de este gen parecen ser independientes ya que el análisis del promotor del gen mencionado por estrategias de delección mostró que existe una región asociada a la inducción por etileno (entre 280 y 40 pares de bases por encima del codón de iniciación) que difiere de la región asociada con la respuesta a ozono (Grimmig y col., 2002).

Por otra parte el ozono genera espontáneamente especies reactivas del oxígeno. Éstas pueden contribuir al entrecruzamiento de ciertos componentes de pared celular como los fenoles (Wiese y Pell, 2003). En ese sentido, resultaría de interés realizar futuros estudios a fin de comprender si la activación de respuestas defensivas se encuentra asociada con la menor incidencia de hongos hallada en los frutos tratados con ozono en el presente trabajo. Independientemente de cual sea el mecanismo asociado a la reducción de enfermedades de poscosecha como consecuencia de los tratamientos con ozono, los resultados sugieren que este tipo de metodologías podría resultar de utilidad para reducir las pérdidas durante el almacenamiento. Esto es de particular interés como alternativa a los métodos tradicionales de control de enfermedades en productos almacenados, más aún ante el aumento en el costo de fungicidas en forma conjunta con el incremento en la preocupación de la seguridad asociada con el uso de agroquímicos en poscosecha. Por último, el ozono posee varias características que sugieren su potencialidad para ser utilizado en el control de microorganismos asociados con enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) recientemente asociados con brotes debido al consumo de hortalizas frescas como *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, y *Listeria monocytogenes* (Mahapatra y col., 2005). Asimismo la reciente incorporación de las buenas prácticas agrícolas en la producción de hortalizas al Código Alimentario Argentino y la existencia de trabajos previos mostrando que el ozono puede ser eficiente en el control de patógenos humanos hace que sea de interés

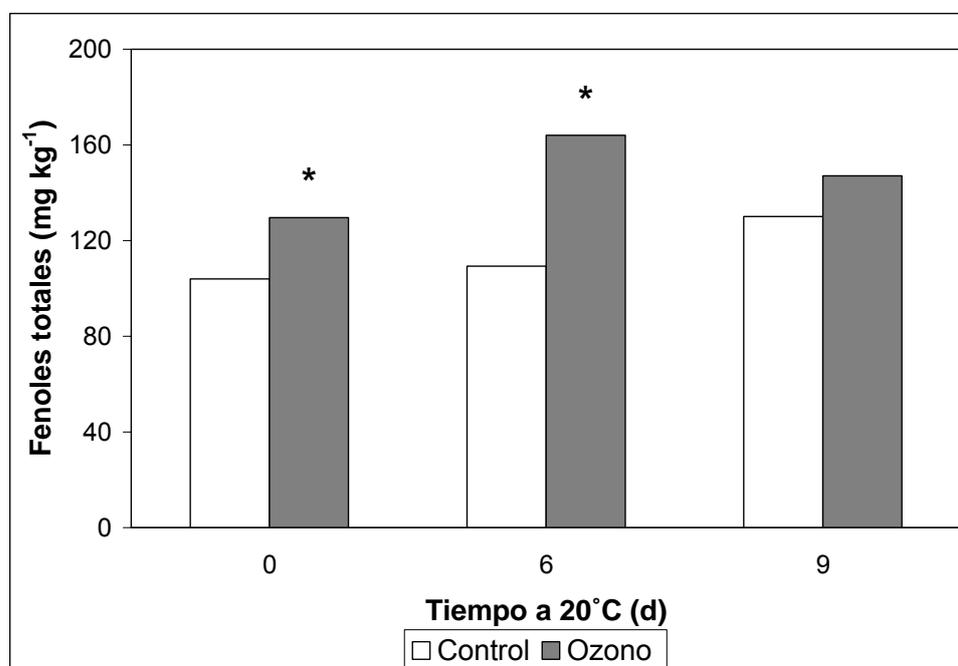
efectuar futuros estudios evaluando la potencialidad de esta metodología para asegurar la inocuidad de los productos.

## **5.2. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON OZONO SOBRE LA CALIDAD DE TOMATE**

### **5.2.1. Fenoles totales**

Este grupo incluye una gran diversidad de componentes derivados de la fenilalanina y tirosina. Desde el punto de vista estructural la característica general de los componentes de este grupo es la de poseer anillos aromáticos con variable grado de hidroxilación (Mattila y col., 2006). Dentro de este grupo se encuentran diferentes subclases de componentes, como los ácidos fenólicos, flavonoides, y otros compuestos (lignanos, estilbenos, taninos, cumarinas y lignina). La presencia de compuestos fenólicos en frutos verdes parece ser uno de los aspectos determinantes de la menor susceptibilidad de estos frutos al ataque de hongos. Se ha sugerido que bajo condiciones de estrés puede promoverse la biosíntesis de compuestos fenólicos lo que podría contribuir a incrementar la resistencia de frutos (Ben-Yehoshua y col., 1987). En uva, los tratamientos poscosecha con radiación UV-C y ozono permitieron incrementar marcadamente los niveles de resveratrol (Cantos y col., 2001; Versari y col., 2001; Gonzáles Barrio y col., 2006). En el presente trabajo se observó que los tratamientos con ozono provocaron un aumento en el contenido de compuestos fenólicos en los frutos (Figura 6). La rápida respuesta observada en la acumulación de fenoles sugiere, al menos en parte, que el incremento del contenido de fenoles se debería a la activación de enzimas preexistentes en los tejidos. De todos modos las diferencias aumentaron aún más durante el almacenamiento (Figura 6). Luego de 6 d de almacenamiento los frutos tratados presentaron una concentración de  $160 \text{ mg kg}^{-1}$  contra  $105 \text{ mg kg}^{-1}$  en los frutos control. Booker y Miller (1998) hallaron que los tratamientos con  $\text{O}_3$  incrementaron la expresión de fenilalanina amonioliasa en soja que constituye un enzima regulatoria en la biosíntesis de compuestos fenil-propanoides. Además observaron que los niveles de ácido cafeico y *p*-cumárico se incrementaron. Estos resultados podrían apoyar la hipótesis de que la acumulación de compuestos con capacidad antimicrobiana podría contribuir al menor ataque de patógenos observado en los frutos tratados (Figuras 4 y 5). De todos modos, resulta necesario realizar más estudios a fin de comprobar esta hipótesis. Más allá del rol como componentes antimicrobianos los compuestos fenólicos son reconocidos antioxidantes. En ese sentido, podría resultar de interés desde el punto de vista nutricional hallar tratamientos capaces de favorecer la acumulación de componentes con capacidad

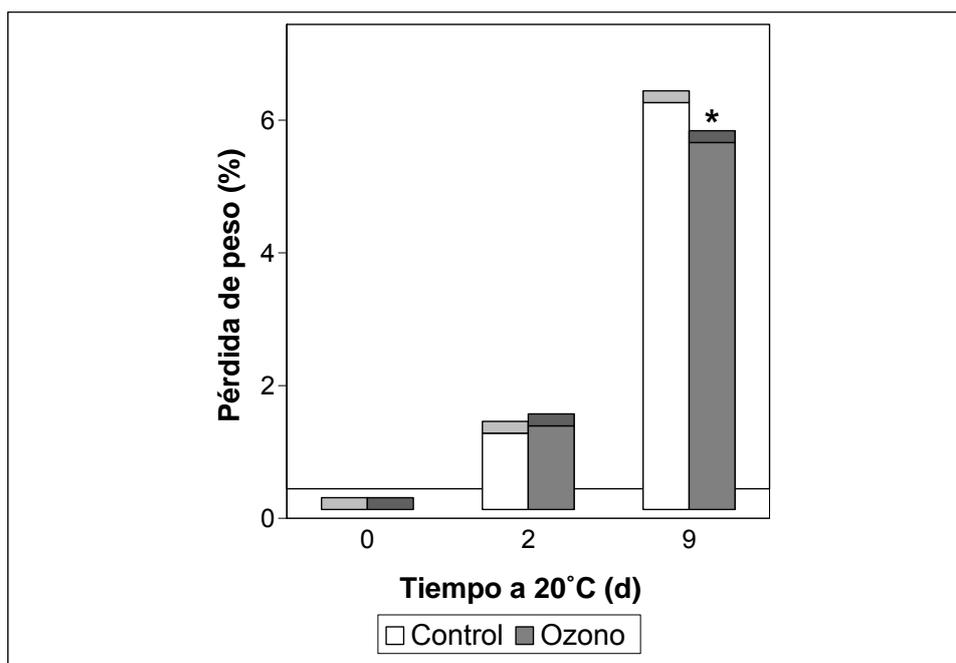
de neutralizar radicales libres. De todos modos diversos son los antioxidantes presentes en frutos. En tomate, y a diferencia de otros frutos como los 'berries' donde los fenoles si son los antioxidantes mayoritarios, el ácido ascórbico parece ser el componente hidrosoluble que más contribuye a la capacidad antirradical de los frutos.



**Figura 6:** Fenoles totales en frutos de tomate control y tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

### **5.2.2. Pérdida de peso**

La pérdida de peso en los frutos es de suma importancia comercial porque se traduce en pérdida de dinero. Se busca minimizarla en forma redituable aunque sea en porcentajes pequeños porque estos valores a gran escala representan mucho dinero. La Figura 7 muestra la pérdida de peso de los frutos control y tratados registrados durante el almacenamiento a 20°C. Al cabo de los nueve días se produce una pérdida de peso significativamente menor en los tomates tratados, (0,6% menor) que en los control. Esto está de acuerdo con el menor daño de las células del tejido del fruto por ataque de patógenos y por ende una menor pérdida de agua por deshidratación.



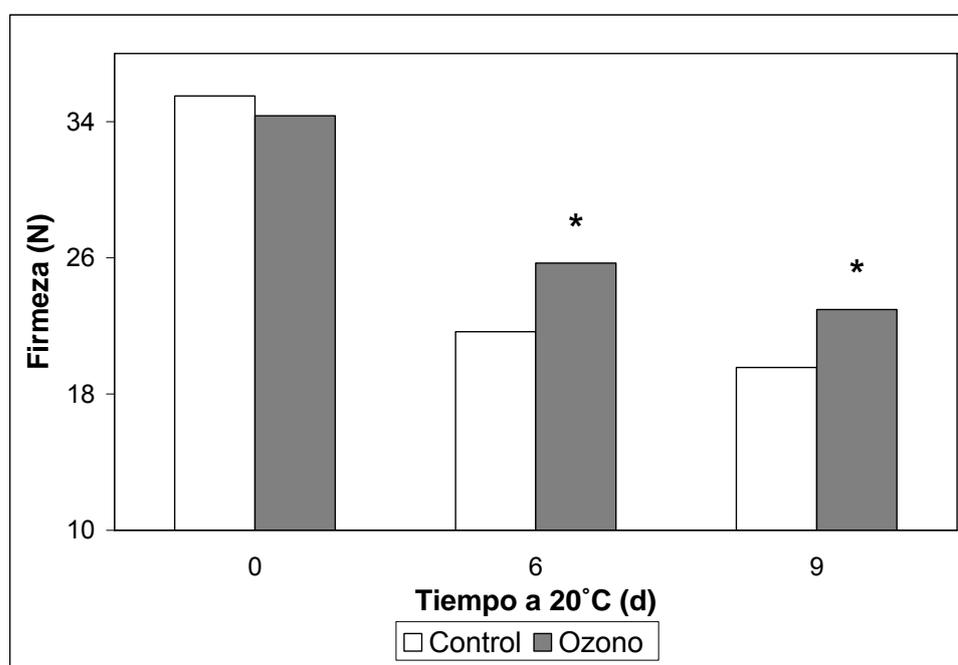
**Figura 7:** Pérdida de peso en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

### 5.2.3. Firmeza

La firmeza es un parámetro de calidad muy importante en el tomate al igual que en otros frutos, siendo el excesivo ablandamiento uno de los problemas más importantes durante el almacenamiento poscosecha. La Figura 8 muestra que tanto los frutos control como tratados redujeron su firmeza durante el almacenamiento. Si bien no se observaron diferencias inmediatamente luego del tratamiento, después de 6 y 9 días de almacenamiento los frutos tratados se mantuvieron más firmes que los no expuestos al ozono. La pérdida de firmeza durante los primeros 6 d de almacenamiento a 20°C fue de 2,3 N día<sup>-1</sup> en los frutos control y 1,4 N día<sup>-1</sup> en los frutos tratados con ozono. Similares resultados fueron descritos por Aguayo y col (2006) en tomates enteros o cortados tratados cíclicamente con ozono.

La firmeza de frutos es afectada por diversos factores, como cambios en la presión de turgencia (Shackel y col., 1991; King y col., 2000; Salentijn y col., 2003), el daño de membranas, la deshidratación y la elongación celular (Sexton y col., 1997; Waldron y col., 2003). No obstante, se acepta que el ablandamiento está asociado al menos en parte con las modificaciones en la arquitectura y composición de las paredes celulares (Brummell y Harpster, 2001; Vicente y col., 2007). Los efectos del ozono sobre el metabolismo de paredes celulares no han recibido demasiada atención a la fecha. Es conocido que el ozono puede afectar la actividad

de enzimas y la expresión génica (Khadre y col., 2001a; Choe y Min 2006). Por lo tanto resultaría posible hipotetizar que los tratamientos realizados podrían haber afectado a los niveles o actividad de estas proteínas asociadas con la degradación de los polímeros de pared celular y con ello retrasar el ablandamiento. Por otra parte, se ha descrito que la exposición de tejidos vegetales al O<sub>3</sub> puede ocasionar modificaciones en la estructura de las paredes celulares así como en la cantidad y propiedades de sus componentes. Por ejemplo, Wiese y Pell (2003) mostraron que los tratamientos con ozono pueden favorecer la polimerización de compuestos fenólicos pudiendo así contribuir a reforzar las paredes celulares. Resultaría de interés realizar nuevos estudios para explorar los mecanismos asociados con el retraso del ablandamiento observado como consecuencia de estos tratamientos en tomate.

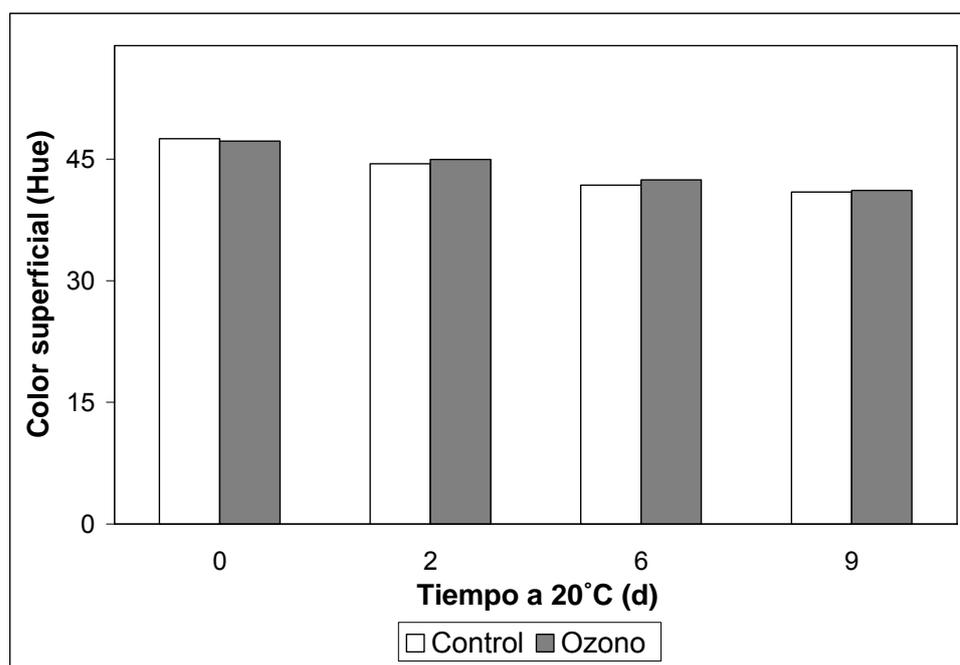


**Figura 8:** Firmeza en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

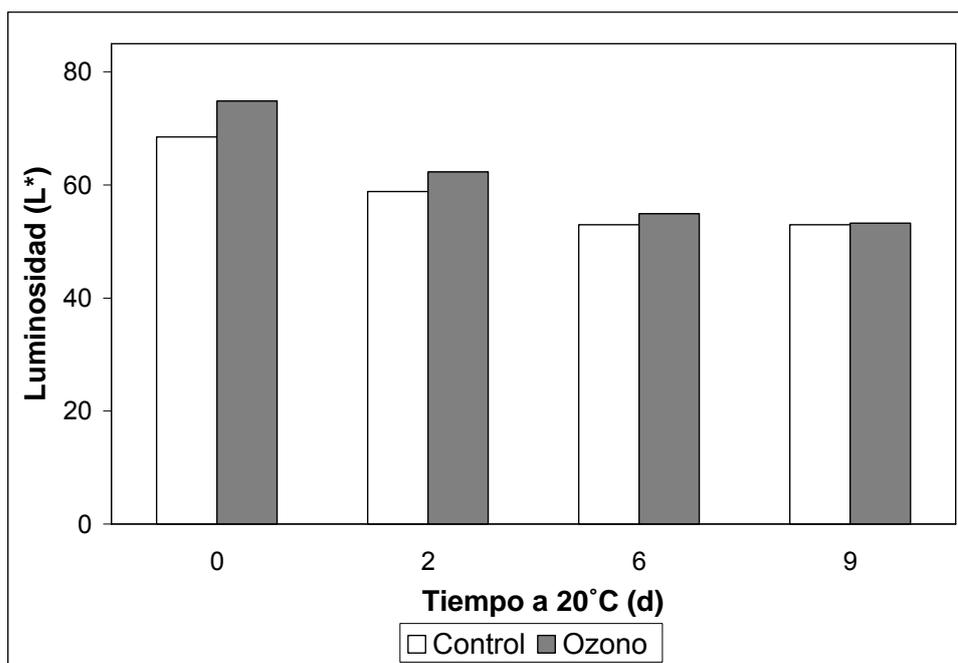
#### **5.2.4. Color superficial**

El color superficial y la luminosidad son parámetros de importancia comercial ya que resultan aspectos de calidad que pueden ser evaluados por los potenciales consumidores en el momento de decidir de compra. Los resultados del presente trabajo muestran que los tratamientos con ozono en las dosis utilizadas no afectaron significativamente la evolución del color de los frutos, la que continuó normalmente durante el almacenamiento (Figuras 9 y 10). La reducción en la firmeza mencionada

anteriormente podría, en una primera aproximación, haberse asociado con un efecto del ozono retrasando la maduración en general. De hecho en tomate el etileno es una hormona fundamental en la regulación de este proceso y es conocido que el ozono es capaz de oxidarlo. De todos modos, los resultados hallados en el presente trabajo sugieren que los efectos observados en el ablandamiento no se deberían a un retraso de la evolución de la maduración en general (como consecuencia de la eliminación del etileno de las zonas circundantes a los frutos), ya que otro proceso vinculado al progreso de la maduración como lo es la síntesis de licopeno no se vio afectado por los tratamientos.



**Figura 9:** Color superficial (Hue) en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d.



**Figura 10:** Luminosidad en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y almacenados a 20°C por 9 d.

#### **5.2.5. Azúcares totales, acidez, pH y capacidad antioxidante**

Los azúcares, la acidez y pH constituyen características de importancia en los frutos, ya que se encuentran asociados con el sabor de los mismos. Si bien resulta de interés encontrar tratamientos de poscosecha que reduzcan la incidencia de enfermedades y el ablandamiento excesivo, es necesario que las técnicas a emplear no ocasionen alteraciones importantes en aspectos asociados a las propiedades organolépticas. Si bien la apariencia en frutos (asociada a la ausencia de manchas, enfermedades, buen color, firmeza, etc) puede ser suficiente para decidir la compra, las características organolépticas resultan cruciales para lograr que se repita el consumo. De hecho, en encuestas realizadas a consumidores el sabor aparece en forma recurrente como una de las características deseables. En este estudio los niveles de azúcares no mostraron variaciones durante el almacenamiento, mientras que la acidez disminuyó conforme se incrementó levemente el pH (Tabla 4). Estos son cambios comúnmente observados en frutos durante el almacenamiento poscosecha. La reducción de la acidez se encuentra en general asociada con la utilización de estos compuestos como sustratos respirables. En tomate los principales ácidos orgánicos presentes son el cítrico y el málico. En la poscosecha se ha observado que la reducción en la acidez se debe principalmente a la disminución en los niveles de ácido málico. Mas allá de los cambios durante el almacenamiento, resulta importante mencionar que no se observaron modificaciones

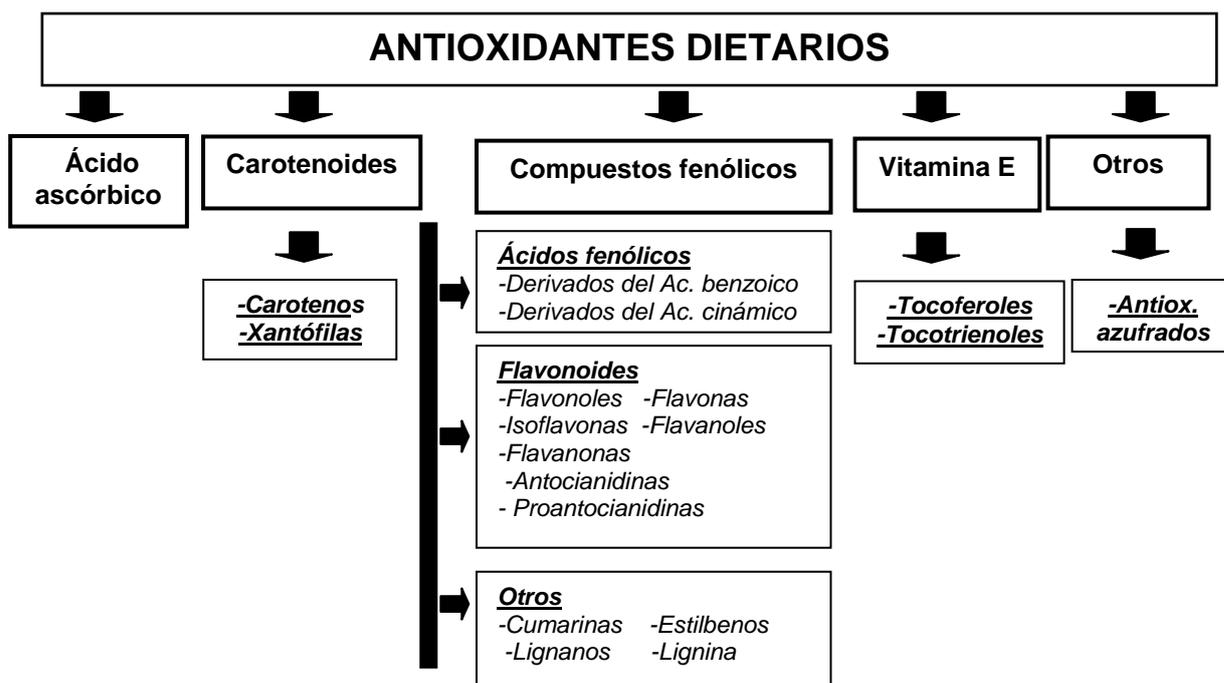
significativas en los niveles de azúcares, acidez y pH de los frutos tratados con respecto a los frutos control.

**Tabla 4:** Azúcares totales, acidez titulable, pH y antioxidantes totales en frutos de tomate control o tratados con ozono (10 min) y a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

		Tiempo de almacenamiento a 20°C (d)			
		0	6	9	LSD
<b>Azúcares (%)</b>	<b>Control</b>	2,44	2,29	2,35	0,25
	<b>Ozono</b>	2,30	2,20	2,20	
<b>Acidez (meq. H<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Control</b>	57,2	50,7	46,3	3,98
	<b>Ozono</b>	59,2	51,9	46,2	
<b>pH</b>	<b>Control</b>	4,46	4,52	4,59	0,05
	<b>Ozono</b>	4,40	4,53	4,50	
<b>Antioxidantes EC50<sup>-1</sup>(mg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Control</b>	0,049	0,052	0,052	0,008
	<b>Ozono</b>	0,043	0,057	0,051	

En contraste, trabajos en los que se realizaron exposiciones cíclicas de tomate con ozono mostraron un incremento en los niveles de azúcares y ácidos (Aguayo y col., 2006). Esto sugiere que un tratamiento único de unos minutos antes del almacenamiento no es suficiente para provocar un cambio significativo en la concentración de azúcares, pero que los tratamientos prolongados si logran tener un efecto en la concentración de azúcares del fruto.

Actualmente existe evidencia conclusiva mostrando que las especie reactivas del oxígeno (EROs) son altamente reactivas y pueden alterar a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos provocando modificaciones en el metabolismo normal y, en ciertos casos, dando lugar a la aparición de numerosos desórdenes y enfermedades (Waris y Ahsan, 2006; Jeremy y col., 2004). Las dietas ricas en frutas y hortalizas pueden reducir la incidencia de desórdenes cardiovasculares y otras enfermedades degenerativas causadas por el daño oxidativo (Ames y col., 1993). La incorporación a la dieta de frutas y hortalizas también reduce la presión arterial y favorece la eliminación de ciertas toxinas. Este efecto protector ha sido asociado con la presencia de componentes antioxidantes (Cao y col., 1996) que se encuentran en todos los órganos de las plantas. Los principales antioxidantes presente en frutas y hortalizas incluyen al ácido ascórbico, carotenoides, compuestos fenólicos, glucosinolatos (en Crucíferas), tocoferoles y tocotrienoles (principalmente en productos ricos en grasas como palta) (Figura 11).

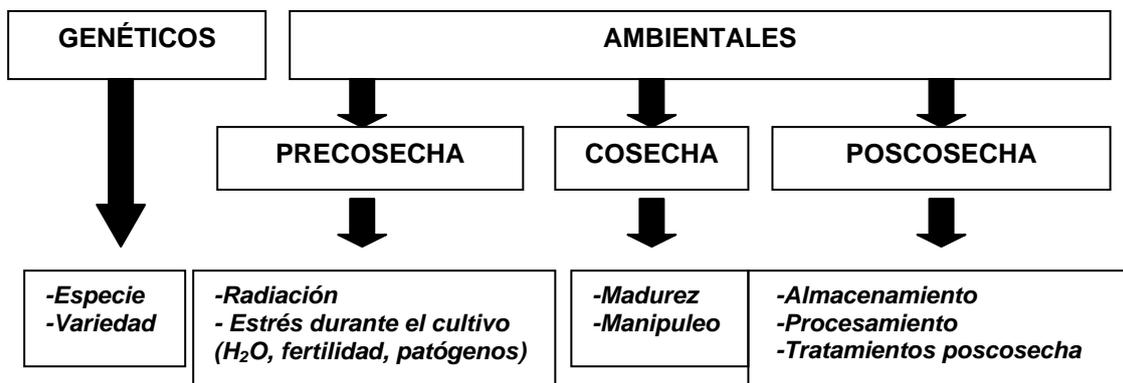


**Figura 11:** Principales antioxidantes dietarios presentes en frutas y hortalizas.

Por lo tanto, la capacidad antioxidante total en los frutos es otro aspecto importante ya que muchos de los efectos beneficiosos en la dieta asociados con el consumo de frutas y hortalizas se vincula con la presencia de estos compuestos.

Los niveles de antioxidantes dependen de variables genéticas y ambientales (Figura 12). Dentro de los aspectos genéticos se incluye la especie, que determina principalmente los grupos de antioxidantes más comunes y la variedad, que en términos generales influencia los niveles de compuestos antioxidantes. Por su parte, los factores ambientales incluyen aspectos de precosecha, tales como la radiación, el manejo y las condiciones de estrés en cultivo. Las variables de cosecha que influyen el contenido de antioxidantes son la manipulación y la madurez a cosecha. Las condiciones de almacenamiento, el daño mecánico, y el procesamiento son los aspectos de poscosecha que influyen en los niveles finales de antioxidantes. Algunos trabajos básicos sugieren que ciertos tratamientos poscosecha como la exposición a atmósferas enriquecidas en ozono pueden incrementar los niveles de antioxidantes (González Barrio y col., 2006). En este trabajo, si bien como se mencionó anteriormente, los tratamientos provocaron un incremento en la acumulación de fenoles, esto no se tradujo en una mayor capacidad antioxidante total (Tabla 4). No obstante resulta importante mencionar que los tratamientos utilizados no se seleccionaron con el objetivo de maximizar la acumulación de compuestos antioxidantes, sino en función de la reducción en la incidencia de enfermedades. Por lo tanto, resultaría de interés evaluar si tratamientos en otras

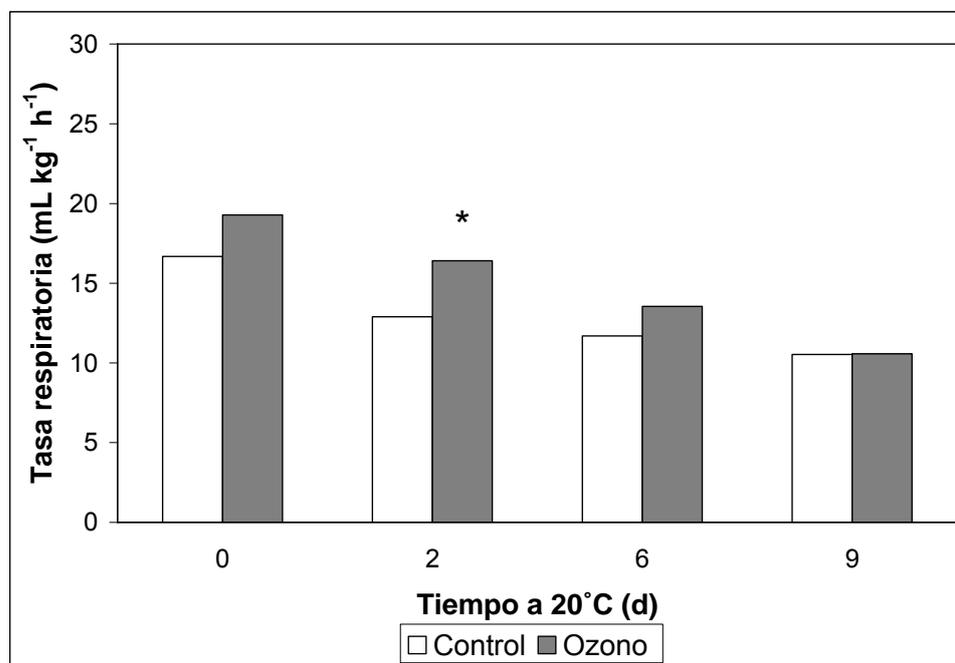
condiciones son capaces de aumentar aun más los niveles de compuestos antirradicales de manera que esto pueda traducirse en un beneficio nutricional cierto.



**Figura 12:** Principales factores que afectan el nivel de antioxidantes en frutas y hortalizas.

### 5.2.6. Actividad respiratoria

Con tratamientos cíclico de ozono se estimuló inicialmente la respiración pero luego ésta cayó a niveles inferiores de los observados en los frutos control (Aguayo y col., 2006). En el presente trabajo, la tasa respiratoria de los frutos tratados con ozono mostró durante todo el almacenamiento una tendencia a mantenerse por encima de la observada en los frutos control. Estas diferencias fueron significativas luego de 2 d a 20°C (Figura 13).

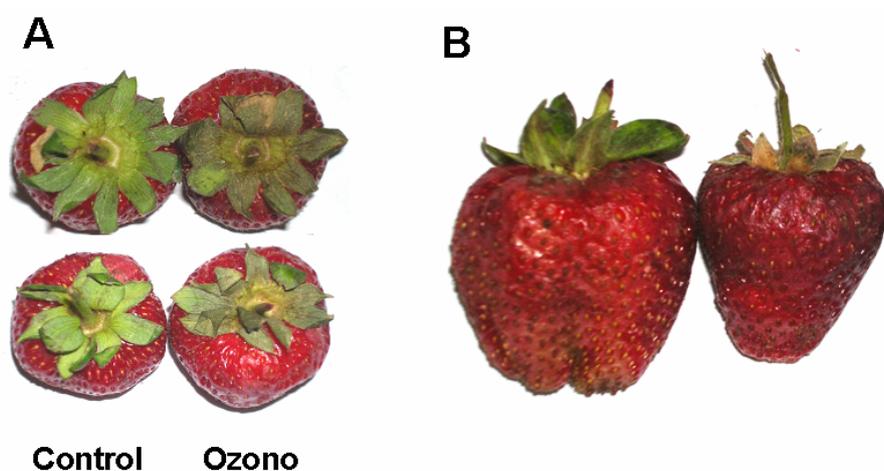


**Figura 13:** Actividad respiratoria en frutos de tomate control o tratados con ozono (10min) y almacenados a 20°C por 9 d. Los asteriscos muestran diferencias significativas del respectivo control a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

El incremento en la tasa respiratoria observado podría deberse o bien a una respuesta de estrés como consecuencia de una exposición a un oxidante fuerte como el ozono o bien a un retraso en el climaterio de los frutos

### **5.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON OZONO EN FRUTILLA**

A fin de evaluar el efecto de tratamientos con ozono en otros frutos se cosecharon frutillas y se expusieron a dosis de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  de ozono (por 2 o 5 min) Los frutos tratados no mostraron síntomas de daño luego de los tratamientos pero durante el almacenamiento se observó el desarrollo de escaldaduras superficiales. Estas se manifestaron como depresiones, cambio de color y deshidratación en el receptáculo (Figura 14, Tabla 5).



**Figura 14:** A: Apariencia del cáliz en frutillas control y tratadas con ozono durante el almacenamiento a 20°C. B: Escaldaduras en frutillas tratadas con ozono durante el almacenamiento a 20°C

Otros cambios negativos ocurridos, como consecuencia de la realización de los tratamientos, incluyeron el pardeamiento y pérdida de luminosidad del cáliz, traducido en una pérdida del color verde y por lo tanto del contenido de clorofilas. También se observó una aceleración del proceso de ablandamiento en el receptáculo. Esto fue descrito en trabajos previos pero en tratamientos con dosis mucho mas elevadas (Allende y col., 2007). En conclusión los resultados hallados en el presente trabajo sugieren que los tratamientos con ozono si bien pueden resultar de utilidad en tomate retrasando el ablandamiento y reduciendo el ataque de hongos, en frutilla, al menos en las dosis evaluadas, resultan perniciosos ya que provocan daños y una importante reducción en la calidad.

**Tabla 5:** Efecto de tratamientos con ozono sobre el color de cáliz, receptáculo y firmeza en frutillas control (C) y tratadas con ozono por 2 ( $T_1$ ) o 5 min ( $T_2$ ). Se muestra la diferencia mínima significativa (LSD) a un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

	Tiempo de almacenamiento a 20°C (d)						LSD
	C	0		C	2		
		$T_1$	$T_2$		$T_1$	$T_2$	
<b>Frutos dañados (%)</b>	0	0	0	50	79	84	ND
<b>Luminosidad de cáliz (<math>L^*</math>)</b>	42,3	41,8	40,6	44,4	42,9	39,7	2,5
<b>Color de cáliz (Hue)</b>	113,1	111,8	108,3	108,5	106,8	100,4	2,6
<b>Luminosidad de receptáculo (<math>L^*</math>)</b>	36,9	36,4	35,3	34,4	35,1	34,5	1,2
<b>Color de receptáculo (Hue)</b>	34,1	34,6	33,2	32,2	31,4	30,4	1,9
<b>Firmeza (N)</b>	1,59	1,58	1,64	1,46	1,18	0,98	0,24

## **6. Conclusiones**

- *La exposición de frutos de tomate a atmósferas enriquecidas en ozono ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ , 10 min) permite retrasar el ablandamiento. Esto podría poseer interés desde el punto de vista tecnológico ya que la excesiva pérdida de firmeza es uno de los principales factores que limita la vida poscosecha de este producto. Resulta importante tomar las precauciones de seguridad necesarias si se pretende utilizar el ozono en ambientes cerrados. Las concentraciones del gas deben ser monitoreadas a fin de evitar riesgos en los trabajadores.*
- *Los tratamientos con ozono en fase gaseosa ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ , 10 min) podrían resultar de utilidad para disminuir la incidencia de hongos durante la poscosecha de tomate. El efecto del ozono sobre la incidencia de enfermedades podría estar asociada con un efecto directo del oxidante sobre los microorganismos. De todos modos, los tratamientos provocaron un incremento en la acumulación de fenoles con reconocida actividad antimicrobiana. Mayores estudios resultarían de interés a fin de evaluar si existe una activación de defensas en los frutos como consecuencia del estrés ocasionado con ozono.*
- *Los frutos tratados con ozono ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ , 10 min) mostraron mejor aspecto general y una reducción de la pérdida de peso al final del almacenamiento (9 d). Este comportamiento estaría mayormente relacionado a la mayor integridad de los tejidos.*
- *Los tratamientos evaluados no ocasionaron en tomate modificaciones indeseables en otros aspectos asociados a la maduración como el color, luminosidad, azúcares y pH.*
- *El tratamiento con ozono provocó un incremento en la tasa respiratoria, lo cual podría deberse o bien a una respuesta de estrés como consecuencia de una exposición a un oxidante fuerte como el ozono o bien a un retraso en el climaterio de los frutos.*

- *Por el contrario, en frutilla los tratamientos con ozono por tiempos inferiores a los ensayados en tomate, provocaron síntomas de fitotoxicidad y aceleraron el ablandamiento. Los principales daños causados por los tratamientos fueron la degradación de clorofila en el cáliz y la aparición de escaldaduras en el receptáculo. Por este motivo la realización de este tipo de tratamientos en frutilla no sería recomendada.*
  
- *La reciente incorporación de las buenas prácticas agrícolas en la producción de Hortalizas al Código Alimentario Argentino, y la existencia de trabajos previos mostrando que el ozono puede ser eficiente en el control de patógenos humanos hace que sea de interés efectuar futuros estudios con el fin de evaluar la potencialidad de este tipo de metodologías limpias para asegurar la inocuidad de los productos.*
  
- *Las frutas y hortalizas son consideradas componentes muy importantes en una dieta saludable. En muchos casos los efectos positivos de estos alimentos se han asociado con la presencia de antioxidantes. Al igual que lo observado en algunos estudios recientes, en el presente trabajo los tratamientos con ozono mostraron ser elicitores de la acumulación de antioxidantes de naturaleza fenólica. Si bien en el presente estudio esto no se tradujo en modificaciones significativas en la capacidad antioxidante total (a la que contribuyen otros compuestos) resulta importante destacar que los tratamientos utilizados no se seleccionaron con el objetivo de maximizar la acumulación de compuestos antioxidantes. En ese sentido resultaría de interés evaluar la potencialidad de tratamientos poscosecha con ozono para incrementar los niveles de antioxidantes en frutos.*

## **7. Referencias**

- Abeles FB, Morgan PW, Saltveit ME. 1992. Ethylene in plant biology. San Diego, California: Academic Press.
- Aguayo E, Escalona VH, Artés F. 2006. Effect of cyclic exposure to ozone gas on physicochemical, sensorial and microbial quality of whole and sliced tomatoes. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 169–177.
- Agius F, Gonzalez-Lamothe R, Caballero JL, Muñoz-Blanco J, Botella MA, Valpuesta V. 2003. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. *Nat. Biotech.* 21, 177-181.
- Allende A, Marín A, Buendía B, Tomás-Barberán F, Gil MI. 2007. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O<sub>3</sub>, superatmospheric O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub>) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 46, 201–211.
- Ames BM, Shigena MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 90, 7915-7922.
- An HJ, Lurie S, Greve LC, Rosenquist D, Kirmiza C, Labavitch JM, Lebrilla CB. 2005. Determination of pathogen-related enzyme action by mass spectrometry analysis of pectin breakdown products of plant cell walls. *Anal. Biochem.* 338,71–82.
- AOAC, 1980. *Methods of Analysis*, 13<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO, Baker R, Scott JW. 1991. Quantitative analysis of flavor parameters in 6 Florida tomato cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1135-1140.
- Barth MM, Zhou C, Mercier J, Payne FA. 1995. Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. *J. Food Sci.* 60, 1286-1288.
- Ben-Yehoshua S, Barak S, Shapiro B. 1987. Postharvest curing at high temperature reduces decay of individual sealed lemons, pummelos, and other citrus fruits. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 112, 658-663.
- Blankenship SM, Dole JM. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 1-25.
- Boeniger MF. 1995. Use of ozone generating devices to improve indoor air quality. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 56, 590-598.
- Booker FL, Miller JE. 1998. Phenylpropanoid metabolism and phenolic composition of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] leaves following exposure to ozone, *J. Exp. Bot.* 49, 1191–1202.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C, 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25-30.

- Brummell DA, Harpster MH. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* 47, 311-340.
- Calvo G, Sozzi GO. 2004. Improvement of postharvest storage quality of 'Red Clapp's' pears by treatment with 1-methylcyclopropene at low temperature. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79, 930-934.
- Candán AP, Graell J, Crisosto C, Larrigaudiere C. 2006. Improvement of storability and shelf-life of 'Blackamber' plums treated with 1-methylcyclopropene. *Food Sci. Technol. Int.* 12, 437-443.
- Cantos E, Espín JC, Tomás-Barberán FA. 2001. Postharvest induction modelling method using UV irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes: a new "functional" fruit? *J. Agric. Food. Chem.* 49, 5052-5058.
- Cantu, D, Vicente AR, Dewey M, Bennett ABB, Labavitch JML, Powell ALT. 2008 The intersection between cell wall disassembly, ripening, and fruit susceptibility to *Botrytis cinerea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 859-864.
- Cao G, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3426-3431.
- Carpita N, McCann M. The plant cell wall. In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones, Eds. 2000, American Society of Plant Physiologists.
- Carpita NC, Gibeaut DM. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3, 1–30.
- Carr AC, Frei B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1086-1107.
- CHFBA. 2005. Censo Hortiflorícola Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Asuntos Agrarios. Provincia de Buenos Aires. Argentina. pp 115.
- Chatterjee IB. 1973. Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. *Science* 182, 1271–1272.
- Choe E, Min DB. 2006. Chemistry and Reactions of Reactive oxygen species in foods. *J. Food Sci.* 70, 142-159.
- Civello PM, Vicente AR, Martínez GA. UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables, 2006*: ISBN: 81-7895-244-0 Editors: Rosalba Troncoso-Rojas, Martín E. Tiznado-Hernández and Alberto González-León
- Costa L, Vicente AR, Civello PM, Chaves AR, Martínez GA. 2006. UV-C treatment

- delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 204-210.
- d'Amour J, Gosselin C, Arul J, Castaigne F, Willemot C. 1993. Gamma-radiation affects cell wall composition of strawberries. *J. Food Sci.* 58, 182-185.
- EPA 2007. Ozone generators that are sold as air cleaners. En: <http://www.epa.gov/iaq/pubs/ozonegen.html>
- FAOSTAT. 2007. En: <http://faostat.fao.org/default.aspx>
- Fisher RL, Bennett AB. 1991. Role of wall hydrolases in fruit ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 675-703.
- Franco Lorda L, Concellón A, Chaves AR, Vicente AR. 2008. Efecto de tratamientos con 1-metilcicloropeno (1-MCP) en estadios de madurez avanzados sobre la calidad de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Actas del XXXI Congreso Argentino de Horticultura.*
- Frossard E, Bucher M, Machler F, Mozafar A, Hurrell R. 2000. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 80, 861-879.
- Gianessi L, Sankula S, Reigner N. 2003. Plant biotechnology: Potential impact for improving pest management in European agriculture. *Tomato – Virus-Resistant Case Study.* The National Center for Food and Agricultural Policy Washington, DC USA.
- Gillaspy G, Ben-David H, Gruissem W. 1993. Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell.* 5, 1439-1451.
- González-Barrio, R Beltrán D, Cantos E, Gil MI, Espín JC, Tomás-Barberán FA. 2006. Comparison of ozone and UV-C treatments on the postharvest stilbenoid monomer, dimer, and trimer Induction in Var. 'Superior' White Table Grapes. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4222-4228.
- Gould WA. 1983. *Tomato production, processing and quality evaluation.* Avi. Pub. Co., Westport, CO., 445.
- Grimmig B, Gonzalez-Perez MN, Welzl G, Penuelas J, Schubert R, Hain R, Heidenreich B, Betz C, Langebartels C, Ernst D, Sandermann Jr H. 2002. Ethylene- and ozone-induced regulation of a grapevine resveratrol synthase gene: different responsive promoter regions. *Plant Physiol. Biochem.* 40, 865–870.
- Grusak MA, Della Penna D. 1999. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 133–161.

- Hancock RD, Viola R. 2005. Improving the nutritional value of crops through enhancement of L-ascorbic acid (vitamin C) content: Rationale and biotechnological opportunities. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5248-5257.
- Helbig J. 2002. Ability of the antagonistic yeast *Cryptococcus albidus* to control *Botrytis cinerea* in strawberry *BioControl* 47, 85–99.
- Hiza HAB, Bente L. 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.
- Hobson G, Grierson D. 1993. Tomato. En: *Biochemistry of fruit ripening*. Seymour, Taylor, Tucker. Editorial Chapman and Hall, pp. 405-442.
- Holcroft DM, Kader AA. 1999a. Carbon dioxide-induced changes in anthocyanin synthesis of stored strawberry fruit. *Hortscience*: 34, 1244–1248.
- Holcroft DM, Kader AA. 1999b. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 17, 19–32.
- Hulme, A.C., 1971. *The biochemistry of fruits and their products*, vol II, Academic press, New York.
- Hunt NK, Marinas BJ. 1997. Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone in water. *Water Res* 31, 1355-1362.
- Hurr BM, Huber DJ, Lee JH. 2005. Differential responses in color changes and softening of 'Florida 47' tomato fruit treated at green and advanced ripening stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *HortTechnol.* 15, 617–622.
- Hwang ES, Cash JN, Zabik MJ. 2002. Degradation of mancozeb and ethylenethiourea in apples due to postharvest treatments and processing. *J. Food Sci.* 67, 3295-3300.
- Ishizaki K, Shinriki N, Ikehata A, Ueda T. 1981. Degradation of nucleic acids with ozone. I. Degradation of nucleobases, ribonucleosides, and ribonucleoside- 5'-monophosphates. *Chem Pharm Bull* 29, 868-872.
- Jeremy JY, Shukla N, Muzaffar S, Handley A, Angelini GD. 2004. Reactive oxygen species, vascular disease and cardiovascular surgery. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2, 229-236.
- Kader AA. 2002. *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, 535p.
- Kader AA. 2003. A perspective on postharvest horticulture (1978-2003). *HortScience* 38, 1004-1008.
- Kader AA. 2005. Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce. *Proc. 5th Int. Postharvest Symp.* Eds. F. Mencarelli and P. Tonutti. *Acta*

- Hort. 682, 2169-2176.
- Karabulut OA, Tezcani A, Daus A, Cohen L, Weiss B, Droby S. 2004. Control of preharvest and postharvest fruit rot in strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Sci. Technol.* 14, 513–521.
  - Khadre MA, Yousef AE, Kim JG. 2001a. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *J. Food Sci.* 66, 1242-1252.
  - Khadre MA, Yousef AE, Kim JG. 2001b. Sporocidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *Int. J. Food Microbiol.* 71,131-138
  - Khan MR, Khan MW. 1999. Effects of intermittent ozone exposures on powdery mildew of cucumber. *Env. Exp. Bot.* 42, 163–171.
  - Kim JG, Yousef AE, Khadre MA. 2003. Ozone and its current and future application in the food industry. *Adv. Food Nutr. Res.* 45, 167-218.
  - King GJ, Maliepaard C, Lynn JR, Alston FH, Durel CE, Evans KM, Griffon B, Laurens F, Manganaris AG, Schrevens E, Tartarini S, Verhaegh J. 2000. Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit flesh firmness in apple (*Malus pumila* Mill.). *Theor.Appl. Genetics* 100, 1074–1084.
  - Klein JD, Lurie S. 1991. Postharvest heat treatment and fruit quality. *Postharv. News Info.* 2, 15-19.
  - Kopsell DA, Kopsell DE. 2006. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. *Trends Plant Sci.* 11, 499-507.
  - Langebartels C, Wohlgemuth H, Kscheschan S, Grün S, Sandermann H. 2002. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants *Plant Physiol. Biochem.* 40, 567–575.
  - Lee SK, Kader AA. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 207-220.
  - Lee S, Yun SC. 2006. The ozone stress transcriptome of pepper (*Capsicum annuum* L.) *Mol. Cells.* 21, 197-205.
  - Levine M, Wang YH, Padayatty SJ, Morrow J. 2001. A new recommended dietary allowance of vitamin C for healthy young women. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 9842-9846.
  - Liew CL, Prange RK. 1994. Effect of ozone and storage temperature on post-harvest diseases and physiology of carrots (*Daucus carota* L.). *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119, 563–567.
  - Lurie S, 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14, 257-269.

- Mahapatra AK, Muthukumarappan K, Julson JL. 2005. Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45, 447–461.
- Manganaris GA, Vicente AR, Crisosto CH, LABavitch, JML. 2007. Effect of dips in a 1-methylcyclopropene-generating solution on 'Harrow Sun' plums stored under different temperature regimes. *J. Agric. Food Chem.* 55, 715-720.
- Manganaris G, Vicente AR, Crisosto C. 2008. Plum fruit quality: Postharvest handling, storage and alleviation of chilling injury symptoms. *CAB Reviews. En prensa.*
- Manning K, 1993. Soft fruit. In: *Biochemistry of fruit ripening*. Edited by Seymour, G.B., Taylor, J.E., and Tucker, G.A, Chapman and Hall, pp. 347-377.
- Mattila P, Hellstrom J, Torronen R. 2006. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7193-7199.
- Maul F, Sargent SA, Sims EA, Balaban MO, Huber DJ. 2000. Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. *J. Food Sci.* 65, 1227-1238.
- McDonald RE, McCollum TG, Baldwin EA. 1996. Prestorage heat treatments influence free sterols and flavor volatiles of tomatoes stored at chilling temperature. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121, 531-536.
- Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. 2007. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. *Food Chem.* 101, 177-184.
- Mitcham EJ, Crisosto CH, Kader AA. 2002. Bushberry: blackberry, blueberry, cranberry, raspberry: Recommendations for maintaining postharvest quality. Department of Pomology, University of California, Davis, In: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/berry.shtml>
- Mitcham E. 1996. Quality assurance of strawberries: a case study. *Perishables Handling Newsletters.* N° 85.
- Mitchell FG, Mitcham E, Thompson JF, Welch N. 1996. *Handling Strawberries for Fresh Market.* Oakland, CA: Univ. Calif. Agr. Nat. Res. Special Publ. 2442, 14 pp.
- Mitchell FG, Rumsey TR, Kasmire RF, Crisosto CH. 2000. *Commercial Cooling of Fruits, Vegetables, and Flowers.* University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 21567. 61 pp.
- Mostofi Y, Toivonen PMA, Lessani H, Babalar M, Lu CW. 2003. Effects of 1-methylcyclopropene on ripening of greenhouse tomatoes at three storage temperatures. *Postharvest Biol Technol* 27, 285–292.
- Mueller LA, Tanksley SD, Giovannoni JJ, van Eck J, Stack S, Choi D, Kim BD, Chen M, Cheng Z, Li C, Ling H, Xue Y, Seymour G, Bishop G, Bryan G, Sharma R,

- Khurana J, Tyagi A, Chattopadhyay D, Singh NK, Stiekema W, Lindhout P, Jesse T, Lankhorst RK, Bouzayen M, Shibata D, Tabata S, Granell A, Botella MA, Giuliano G, Frusciante L, Causse M, Zamir D. 2005 The tomato sequencing project, the first cornerstone of the International Solanaceae project (SOL). *Comp. Funct. Genom.* 6, 153–158.
- Murad SD, Grove KA, Lindberg G, Reynolds A, Sivarajah A, Pinnell SR. 1981. Regulation of collagen synthesis by ascorbic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 2879–2882.
- Noctor G, Foyer C. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249–279.
- Nuez, F. 1995. El cultivo de tomate. Editorial Mundi Prensa. España 793 pp.
- Olías JM, Sanz C, Pérez AG, 1998. Postcosecha de la fresa de Huelva. Principios básicos y tecnología. Instituto de la Grasa. CSIC. Sevilla. España.
- Ong KC, Cash JN, Zabik MJ, Siddiq M, Jones AL. 1996. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce. *Food Chem.* 55, 153-160.
- Palou, L, Smilanick, JL, Crisosto CH, Mansour M. 2001. Effect of gaseous ozone exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. *Plant Dis.* 85, 632-638.
- Palou L, Crisosto CH, Smilanick JL, Adaskaveg JE, Zoffoli JP. 2002. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 39–48.
- Palou L, Smilanick JL, Crisosto CH, Mansour M, Pla P. 2003. Ozone gas penetration and control of the sporulation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* within commercial packages of oranges during cold storage. *Crop Protect.* 22, 1131–1134.
- Pan J, Vicente AR, Martínez GA, Chaves AR, Civello PM. 2004. Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1831–1834.
- Pascual A, Llorca I, Canut A. 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends Food Sci. Technol.* 18, S29-S35.
- Pascualini S, Piccioni C, Reale L, Ederli L, Della Torre G, Ferranti F. 2003. Ozone-induced cell death in tobacco cultivar Bel W3 plants. The role of programmed cell death in lesion formation. *Plant Physiol.* 133, 1122-1134.

- Pérez AG, Sanz C, Ríos JJ, Olías R, Olías JM. 1999. Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 1652-1656
- Petro-Turza, M. 1987. Flavor of tomato and tomato products. *Food Rev. Int.* 2, 309-351.
- Pratella GC, Mari M. 1993. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in postharvest fruit protection. *Postharvest Biol. Technol.* 3, 49-56.
- Rice RG, Farquahar JW, Bollyky JL 1982. Review of the applications of ozone to increasing storage times of perishable goods. *Ozone Science & Engineering* 4, 147-163.
- Rick CM. Tomato. In: J Smartt and NW Simmonds (eds), *Evolution of Crop Plants*. Longman Scientific and Technical, Essex, England. pp 452-457
- Rodriguez-Amaya, D.B. 2001. *A Guide to carotenoid analysis in foods*. ILSI press. International Life Sciences Institute, One Thomas Circle, N.W. Washington, D. C. 20005-5802 ISBN 1-57881-072-8.
- Rose JKC, Catalá C, Gonzalez-Carranza ZH, Roberts JA. 2003. Cell wall disassembly, pp 264-324. In: Rose, J.K.C., ed., *The Plant Cell Wall*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- SAGPYA 2008. Descripción y mercado de los distintos productos hortícolas. En: <http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>
- Salentijn EMJ, Aharoni A, Schaart JG, Boone MJ, Krens FA. 2003. Differential gene expression analysis of strawberry cultivars that differ in fruit-firmness. *Physiol. Plant.* 18, 571-578.
- Salunkhe DK, Desai BB. *Postharvest biotechnology of fruits*. Volume I. CRC press Inc. USA. 1984.
- Sanderman H, Dieter E, Heller W, Lagenbarter C. 1998 Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions 3, 47-50.
- Sanmartin M, Pateraki I, Chatzopoulou F, Kanellis AK. 2007. Differential expression of the ascorbate oxidase multigene family during fruit development and in response to stress. *Planta* 225, 873-885.
- Sarig P, Zahavi T, Zutkhi Y, Yannai S, Lisker N, Ben-Arie R. 1996. Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 48, 403-415.
- Schrauder M, Moeder W, Wiese C. 1998. Ozone-induced oxidative burst in the ozone biomonitor plant, Tobacco Bel W3. *The Plant Journal.* 16, 235-245.
- Scott DBM. 1975. The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives. In: Blogoslawski WJ, Rice RG, editors. *Aquatic applications of ozone*. Syracuse, N.Y.: International Ozone Institute. P 1-15.

- Selvarajah S, Bauchot AD, John P. 2001. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 23,167–170.
- Sexton R, Palmer JM, Whyte N, Littlejohns S. 1997. Cellulase, fruit softening and abscission in red raspberry *Rubus idaeus* L. cv Glen Clova. *Ann. Botany* 80, 371-376.
- Shackel KA, Greve C, Labavitch JM, Ahmadi H. 1991. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiol.* 97, 814–816.
- Sharma YK, Davis KR. 1994. Ozone-induced expression of stress-related genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 105, 1089-1096.
- Sisler EC. 2006. The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnol. Adv.* 24, 357-367.
- Sisler EC, Serek M. 1999. Compounds controlling the ethylene receptor. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40, 1-7.
- Smilanick JL, Crisosto C, Mlikota F. 1999. Postharvest use of ozone on fresh fruit. *Perishables Handling Quarterly Issue No. 99*, 10-14.
- Smirnoff N. 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 229–235.
- Smirnoff N, GL. Wheeler. 2000. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 35, 291-314.
- Smith DL, Starret DA, Gross KC. 1998. A gene encoding for tomato fruit  $\beta$ -galactosidase II is expressed during fruit ripening. *Plant Physiol.* 117, 417-423.
- Suslow TV. 2004. Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops. University of California Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 8133. pp 8.
- Suslow TV, Cantwell M. 2006. Tomato. Recommendations for maintaining Postharvest quality. En: [www.postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/tomato.shtml](http://www.postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/tomato.shtml)
- Tieman DM, Handa AK, 1994. Reduction in pectin methylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits. *Plant Physiol.* 106, 429-436.
- Tucker GA. 1993. Introduction. *Biochemistry of fruit ripening*. Seymour, Taylor, Tucker. Editorial Chapman and Hall, pp. 1-43.
- Tzortzakis N, Singleton I, Barnes J. 2007. Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biol. Technol.* 43, 261–270.

- USDA. 2008. Composition of foods, raw, processed, prepared. USDA national nutrient database for standard reference, release 20. USDA-ARS, Human Nutrition Res. Ctr. <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>. Accessed 04/2008.
- Valpuesta V, Botella MA. 2004. Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: New pathways for an old antioxidant. *Trends Plant Sci.* 9, 573-577.
- Versari A, Parpinello GP, Tornielli GB, Ferrarini R, Giulivo C. 2001. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv. Corvina. *J. Agric. Food. Chem.* 49, 5531-5536.
- Vicente AR, Martínez GA, Civello PM, Chaves AR. 2002. Quality of heat-treated strawberry fruits during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 25, 59-71.
- Vicente AR, Martínez GA, Chaves AR, Civello PM, Chaves AR. 2003. Influence of self-produced CO<sub>2</sub> on postharvest life of heat-treated strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 27, 265–275.
- Vicente AR, Pineda C, Lemoine L, Civello PM, Martinez GA Chaves AR. 2005a. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biol. Technol.* 35, 69-78.
- Vicente A, Civello M, Martínez GA, Powell ALT, Labavitch JM, Chaves A. 2005b. Control of postharvest spoilage in soft fruit. *Stewart Postharvest Review Journal.* 1, 1-11.
- Vicente AR, Sozzi GO, Manganaris G, Crisosto CH. 2008. Nutritional value of fruits and vegetables. In: *Postharvest Handling*, 2nd edition, edited by W.J. Florkowski, R. Shewfelt, B. Brueckner and S. Prussia, Elsevier, En prensa.
- Vicente AR, Sozzi GO. 2007. Ripening and postharvest storage of 'soft fruits'. Global Science Books (GSB), London, UK. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*.
- Vicente AR, Saladié M, Rose JKC, Labavitch JM. 2007. The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *J. Sci. Food Agric.* 87, 1435–1448.
- Waldron KW, Parker ML, Smith AC. 2003. Plant cell walls and food quality. *Compr. Rev. Food Sci. Safety* 2, 101–119.
- Waris G, Ahsan H. 2006. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J. Carcinog.* 6, 14-21.
- Watkins CB, Manzano–Mendez JE, Nock JF, Maloney KE. 1999. Cultivar variation in response of strawberry fruit to high carbon dioxide treatments. *J. Sci. Food Agric.* 79, 886–890.
- Watkins CB. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol. Adv.* 24, 389-409.

- Weschler CJ, Hodgson AT, Wooley JD. 1992. Indoor chemistry: Ozone, volatile organic compounds, and carpets. *Env. Sci. Technol.* 26, 2371-2377.
- Weschler CJ, Shields HC. 1996. Production of the hydroxyl radical in indoor air. *Env. Sci. Technol.* 30, 3250-3268.
- WHO. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series # 916.
- Wiese CB, Pell EJ. 2003. Oxidative modification of the cell wall in tomato plants exposed to ozone. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 375–382.
- Wills RBH, Ku VVV. 2002 Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes *Postharvest Biol. Technol.* 26, 85-90.
- Wohlgemuth H, Mittelstrass K, Kschieschan S. 2002. Activation of oxidative burns is a general feature of sensitive plants exposed to the air pollutant ozone. *Plant, Cell and Environment.* 25, 717-726.
- Yuan R, Carbaugh DH. 2007. Effects of NAA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of 'Golden Supreme' and 'Golden Delicious' apples. *HortScience.* 42,101-105.