



Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura

**PURÉ DE BANANAS. APLICACIÓN DE ESTRATEGIAS
TECNOLÓGICAS PARA PRESERVAR SUS CARACTERÍSTICAS
ORGANOLÉPTICAS**

Lic. Rodrigo R. Franco

Tesis de Doctorado en Química

Directora: **Dra. Sonia C. Sgroppo**

Subdirector: **Dr. Gonzalo A. Ojeda**

Laboratorio de Investigación en Microbiología y Alimentos (UNaF)

Laboratorio de Tecnología Química y Bromatología (UNNE)

Agradecimientos

A mi directora, la Dra. Sonia Sgroppo por su continuo apoyo y guía. Su experiencia y conocimientos han enriquecido significativamente mi trabajo y mejorado su calidad. Su dedicación y entusiasmo han sido una fuente constante de inspiración.

A mi subdirector, el Dr. Gonzalo Ojeda por su orientación y constante apoyo a lo largo de este proceso que han sido fundamentales para la realización de este trabajo. Agradecido por su paciencia, sus constructivas críticas y su constante estímulo.

A la Dra. Karina Rompató por su tiempo y esfuerzo. Su dedicación a la enseñanza y la investigación ha dejado una marca indeleble en mi desarrollo profesional. Su capacidad para motivar y fomentar el pensamiento crítico ha sido de gran influencia en mi trabajo.

A la Dra. Susana Somoza, que ha sido una fuente constante de inspiración y guía a lo largo de este trabajo. Agradecido por siempre estar dispuesta a ofrecer su tiempo y experiencia. Su sabiduría, dedicación y apoyo han sido invaluable para mi formación.

Al Dr. Camilo Orrabalís y al Dr. Horacio Gorostegui del Instituto Politécnico Formosa, quienes apostaron por mis capacidades y creyeron en mí incluso cuando el camino no era fácil. Llegar a esta instancia no habría sido posible sin su confianza. Este logro no es solo mío, sino también de ustedes, que me brindaron su apoyo y motivación.

A la familia López-Rigo, por su generosidad y hospitalidad durante mi estancia en Corrientes. Gracias por el cariño y por compartir su hogar conmigo.

A mis compañeros del laboratorio por sus aportes durante las experimentaciones que han sido de gran ayuda.

A mi familia por su amor incondicional, su apoyo y su fe en mí a lo largo de esta etapa.

Listado de publicaciones derivadas de la Tesis

- **Artículos publicados en revistas:**

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C. (2021). Effects of short-wave ultraviolet light, ultrasonic and microwave treatments on banana puree during refrigerated storage. *Food Science and Technology International*, 29(1), 50-61.

- **Trabajos en eventos C-T publicados:**

Franco R.R., Rompato K.M., Gimenez C.G., Ojeda G.A., Sgroppo S.C. (2024). Composición nutricional de bananas (*Musa cavendish*) cultivadas en Formosa, Argentina. IX Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina.

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C. (2020). "Aplicación de tecnología térmica no convencional para la conservación del puré de bananas". En Resúmenes XXII Jornadas de ciencia y tecnología. SECYT. UNAF, Argentina: EDUNAF. 2020.

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C (2019). "Inhibición de la polifenol oxidasa en puré de bananas". En LIBRO DE RESÚMENES I CONGRESO DE ENZIMAS EN ALIMENTOS, Chile: UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE. 2019.

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C (2019). "Aplicación de agentes antipardeantes para la conservación del puré de bananas". En Resumen XXI JORNADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. SECYT. UNAF., Argentina: EDUNAF. 2019

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C (2018). "Aplicación de tecnologías no térmicas para la conservación del puré de bananas". En Resumen XX JORNADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. SECYT. UNAF, Argentina: EDUNAF. 2018.

Franco, R. R., Ojeda, G. A., Rompato, K. M., y Sgroppo, S. C (2017). "Determinación de la actividad antioxidante en bananas (*Musa cavendish*) de Formosa". En Resumen XIX Jornadas de ciencia y tecnología. SECYT. UNAF, Argentina: EDUNAF. 2017.

Índice General

I Introducción.....	1
I.1. Banana (<i>Musa cavendish</i>).....	1
I.2. Producción bananera	4
I.2.1. Producción bananera en Formosa	5
I.2.2. Tecnologías y productos derivados	7
I.2.3. Alternativas tecnológicas	9
I.3. Puré de bananas.....	11
I.4. Pardeamiento enzimático.....	12
I.4.1. Compuestos fenólicos	14
I.4.2. Polifenol oxidasa	16
I.4.3. Peroxidasa	18
I.4.4. Evaluación del pardeamiento.....	18
I.5. Alternativas tecnológicas para la prevención del pardeamiento enzimático.....	20
I.5.1. Tecnologías convencionales	21
I.5.2. Tecnologías emergentes.....	23
I.6. Métodos químicos para la prevención del pardeamiento enzimático	28
I.6.1. Inhibidores enzimáticos	29
I.6.2. Agentes reductores.....	30
I.6.3. Modificadores del pH	31
I.7. Objetivos	33
Objetivo general	33
Objetivos específicos.....	33
II Materiales y Métodos.....	34
II.1. Material vegetal.....	34
II.2. Elaboración del puré	34
II.3. Tratamientos	35
II.3.1. Control.....	35
II.3.2. Radiación ultravioleta C (UV-C)	35
II.3.3. Ultrasonido (US)	37
II.3.4. Microondas (MO).....	38
II.3.5. Tratamientos térmicos	39
II.3.6. Tratamientos con agentes antipardeantes	39
II.4. Determinaciones analíticas	40
II.4.1. Evaluación del color.....	40

II.4.2. Humedad y materia seca	43
II.4.3. Cenizas	44
II.4.4. Sólidos solubles.....	44
II.4.5. Acidez titulable.....	44
II.4.6. Ácido Ascórbico	44
II.4.7. Ácidos orgánicos	45
II.4.8. Fenoles totales	45
II.4.9. Azúcares Totales.....	46
II.4.10. Azúcares Reductores.....	47
II.4.11. Capacidad antioxidante.....	47
II.4.12. Actividad enzimática	49
II.5. Análisis microbiológico	51
II.6. Análisis sensorial.....	52
II.7. Análisis estadístico.....	53
III Resultados y Discusión	54
III.1. Caracterización del material vegetal.....	54
III.1.1. Morfometría	54
III.1.2. Determinación del estadio de maduración	56
III.1.3. Composición y propiedades de la banana	60
III.1.4. Actividad enzimática	64
III.1.5. Análisis de componentes principales	66
III.1.6. Conclusiones parciales	70
III.2. Tratamientos físicos	71
III.2.1. Ensayos preliminares	71
III.2.2. Evaluación del pardeamiento.....	74
III.2.3. Actividad enzimática	86
III.2.4. Fenoles totales y capacidad antioxidante	91
III.2.5. Análisis microbiológico.....	96
III.2.6. Conclusiones parciales.....	101
III.3. Tratamientos químicos	102
III.3.1. Ensayos preliminares	102
III.3.2. Aplicación de agentes químicos antipardeantes	104
III.3.3. Evaluación del pardeamiento.....	104
III.3.4. Actividad enzimática	115
III.3.5. Fenoles totales y capacidad antioxidante	120
III.3.6. Contenido de ácidos orgánicos.....	125

III.3.7. Optimización de la concentración de agentes químicos.....	127
III.3.8. Conclusiones parciales	132
III.4. Tratamientos combinados	134
III.4.1. Evaluación del pardeamiento.....	135
III.4.2. Actividad enzimática	140
III.4.3. Fenoles totales y capacidad antioxidante	142
III.4.4. Evaluación sensorial	145
III.4.5. Conclusiones parciales	148
IV Conclusiones generales	149
V Bibliografía	152

Índice de figuras

Figura I.1- Bananas formoseñas (<i>Musa cavendish</i>).....	4
Figura I.2- Producción/Rendimiento de bananas en Argentina (2000-2023)	6
Figura I.3- Flujograma de productos derivados de la banana	10
Figura I.4- Estructura de algunos sustratos de la enzima PPO encontrados en frutos	15
Figura I.5- Localización interna y externa de compuestos fenólicos y enzimas oxidantes (PPO y POD) en una célula vegetal típica	16
Figura I.6- Formación de difenol catalizada por PPO.....	17
Figura I.7- A) Formación de o- difenol mediado por catecolasa; B) Formación de p- difenol mediado por lacasa	17
Figura I.8- Espacio CIELab.....	19
Figura I.9- Subdivisiones del espectro Ultravioleta y sus aplicaciones	25
Figura I.10- Ondas ultrasónicas y el fenómeno de cavitación	26
Figura I.11- Mecanismo estimado de inactivación y cambios estructurales en la enzima PPO bajo tecnología ultrasónica.....	27
Figura I.12- Mecanismo de acción del ácido ascórbico.....	31
Figura II.1- Esquema del procesamiento	35
Figura II.2- Cámara de radiación UV-C.....	36
Figura II.3- Placas de vidrio utilizadas para los tratamientos con luz UV-C	36
Figura II.4- Evolución de la temperatura= f(t) durante el tratamiento con microondas..	39
Figura II.5- Sistema de obtención de imagen.....	42
Figura II.6- Cálculo de los parámetros L*, a* y b* con el software Image Processing and Analysis in Java (ImageJ)	43
Figura II.7- Imágenes durante las sesiones de evaluación sensorial	52
Figura III.1- Evolución del color de la cáscara durante la maduración natural de bananas <i>Musa cavendish</i>	57
Figura III.2- Variación del porcentaje de Área Lesionada del Fruto (%ALF) durante la maduración natural.....	60
Figura III.3- Actividad enzimática en diferentes estados madurativos	64
Figura III.4- Análisis de componentes principales	68
Figura III.5- Pruebas preliminares de diferentes tratamientos físicos en puré de bananas	73
Figura III.6 (A)- Evolución del parámetro colorimétricos L* en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.....	75
Figura III.6- (B)- Evolución del parámetro colorimétricos a* en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4°C.....	78

Figura III.6- (C)- Evolución del parámetro colorimétrico b^* en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4°C.....	79
Figura III.6- (D)- Evolución del parámetro colorimétrico Chroma (C^*) en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C	83
Figura III.7- Evolución del IP en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C.....	84
Figura III.8- Color superficial de purés de bananas control (día 0) y tratados con luz UV-C, US y MO envasados a los 20 días de almacenamiento a 4 °C	86
Figura III.9- Actividad enzimática residual relativa de PPO (A) y POD (B) en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US, MO almacenadas a 4 °C.....	90
Figura III.10- Variaciones en la concentración de compuestos fenólicos en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.....	92
Figura III.11- Evolución de la capacidad antioxidante total [(A) ABTS•+, (B) DPPH, (C) Poder reductor] en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C	95
Figura III.12- Evaluación preliminar con diferentes agentes antipardeantes	103
Figura III.13 (A)- Evolución del parámetro colorimétricos L^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	105
Figura III.13 (B)- Evolución del parámetro colorimétricos a^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	108
Figura III.13 (C)- Evolución del parámetro colorimétrico b^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	110
Figura III.13 (D)- Evolución del parámetro colorimétrico Chroma (C^*) en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C	111
Figura III.14- Comparación del color superficial de los purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, en el día 20 del almacenamiento a 4 °C.....	113
Figura III.15- Evolución del IP en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C	115
Figura III.16- Evolución de la actividad enzimática relativa de PPO en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	116
Figura III.17- Evolución de la actividad enzimática relativa de POD en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	119
Figura III.18- Evolución del contenido de fenoles totales en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	121
Figura III.19- Evolución de la capacidad antioxidante total [(A) ABTS•+, (B) DPPH•, (C) Poder reductor] en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C	124
Figura III.20- Representación esquemática de un diseño de centroide simplex para tres componentes.....	127
Figura III.21- Gráficos de MSR	131

Figura III.22- Evolución de los parámetros colorimétricos L* (A) a*(B) y b* (C) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	137
Figura III.23- Evolución del parámetro colorimétricos Chroma (C*) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.	137
Figura III.24- Evolución del IP en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	139
Figura III.25- Actividad enzimática relativa de PPO (A) y POD (B) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.....	141
Figura III.26- Variaciones en la concentración de compuestos fenólicos en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	143
Figura III.27 (A)- Evolución de la capacidad antioxidante total (ABTS•+) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	144
Figura III.27 (B)- Evolución de la capacidad antioxidante total (DPPH•) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	144
Figura III.27 (C)- Evolución de la capacidad antioxidante total (Poder reductor) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C	145
Figura III.28- Puntajes globales de los atributos sensoriales evaluados	147

Índice de tablas

Tabla I.1- Aplicación de ácido ascórbico como antipardeante en diferentes vegetales	30
Tabla III.1- Morfometría de las bananas formoseñas	55
Tabla III.2- Caracterización de la pulpa fresca de bananas formoseñas	61
Tabla III.3- Matriz de correlación/Coeficientes	69
Tabla III.4- Puntaje del descriptor apariencia general de puré de bananas tratadas con UV-C, ultrasonido, microondas y escaldado	71
Tabla III.5- Evolución del parámetro hue (h°) en puré de bananas control y tratados con UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.....	81
Tabla III.6- Análisis microbiológico en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.....	97
Tabla III.7- Resultados para el atributo grado de pardeamiento de purés de bananas tratadas con diferentes agentes químicos	104
Tabla III.8- Evolución del parámetro hue (h°) en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.....	112
Tabla III.9- Contenido de ácidos orgánicos durante el periodo de almacenamiento refrigerado a 4°C	126
Tabla III.10- Matriz del diseño experimental y resultados del IP para muestras tratadas con agentes antipardeantes	128
Tabla III.11- Matriz de ANAVA del MSR.....	129
Tabla III.12- Evolución del parámetro hue (h°) en puré de bananas control y tratados con US+AA, almacenadas a 4 °C.....	138

Resumen

Las bananas son frutas con bajo contenido en sodio y altos niveles de potasio, proporcionan calcio, hierro, fósforo, vitamina B₆, azúcares solubles y fibra. Estas características de su composición las hace nutricionalmente importantes, al igual que su aporte en calorías y la facilidad de digestión que tienen.

En la provincia de Formosa la producción bananera ha presentado ciertas dificultades, sobre todo en la etapa de comercialización. Esto se debe a que muchas veces no se alcanzan los parámetros de calidad que exige el mercado de consumo en fresco, por lo que la idea de su industrialización resulta atractiva por los potenciales beneficios que llegarían al productor primario. De los productos que se pueden elaborar a partir de la banana, uno de los más importantes en el mercado es el puré de bananas. Dicho producto es empleado en la industria alimenticia como parte de los ingredientes en diversas formulaciones. Sin embargo, estos productos presentan comúnmente una alteración indeseada del color, resultando un factor limitante en su vida útil. El color en el puré de banana es indicativo de su calidad, ya que ponen de manifiesto numerosas reacciones de deterioro, las cuales generan pigmentos pardos dando un aspecto desagradable al producto alterando su calidad nutricional y la apariencia. La calidad nutricional se ve afectada por las reacciones de Maillard que involucran fenoles, azúcares, aminoácidos, proteínas y vitaminas, así como también por las reacciones de origen enzimático, en las que los compuestos fenólicos pueden generar nuevos compuestos de menor valor nutricional.

Las reacciones de pardeamiento son catalizadas principalmente por las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD). Este fenómeno puede ser controlado aplicando tratamientos físicos, químicos o una combinación de ambos. Por ello, el propósito del presente trabajo de tesis fue hallar los tratamientos más adecuados para la preservación del puré de bananas, en base a sus efectos en el color. Se analizaron los resultados luego de la aplicación de los tratamientos en la actividad de las enzimas

PPO y POD, en la concentración fenoles y la capacidad antioxidante. Además, se determinó la calidad microbiológica del producto y efectuó la evaluación sensorial.

Entre los tratamientos físicos, la reducción de temperatura y del contenido de oxígeno son los más utilizados, pero, actualmente, la aplicación de tecnologías emergentes se presenta como método alternativo a los tradicionales. En este trabajo de tesis fueron evaluados los tratamientos con radiación ultravioleta-C (UV-C), microondas (MO) y ultrasonido (US).

Los resultados revelaron que la luz UV-C (dosis de $1,97 \text{ kJ/m}^2$) resultó ser un eficiente germicida, pero tiene la desventaja de promover indirectamente el pardeamiento enzimático, habiéndose encontrado cambios significativos en el color. La enzima PPO fue inhibida temporalmente al aplicar el tratamiento y luego mantuvo su actividad durante el almacenamiento, en tanto la actividad POD se inhibió parcialmente.

El tratamiento con MO a una potencia de 800 W aplicado durante 25 s permitió retrasar el pardeamiento con la inhibición parcial de la enzima PPO logrando preservar el color del puré durante el almacenamiento. Sin embargo, la pérdida de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante fue significativa.

La mejor alternativa tecnológica estudiada fue US a 40 kHz de frecuencia durante 10 min, siendo una técnica beneficiosa en el procesamiento del puré de bananas. Las ventajas del US frente a los demás tratamientos incluyeron la reducción del pardeamiento enzimático, disminución de la actividad PPO, menores pérdidas del contenido de fenoles y capacidad antioxidante que lo observado en los purés tratados con MO.

Ambos tratamientos, MO y US, aplicados tuvieron una evolución de la carga microbiológica similar al puré sin tratamiento, aunque fueron efectivos en el control del crecimiento de mohos y levaduras.

Por otro lado, los métodos químicos son frecuentemente utilizados para retardar o inhibir el desarrollo de pardeamiento enzimático. Su mecanismo de acción puede ser diverso, pero se basa principalmente en la inhibición enzimática, la reducción de la disponibilidad del sustrato y/o de los productos de la catálisis enzimática y evitando así la formación de productos coloreados. Por este motivo se propuso en el presente trabajo de tesis determinar la concentración más efectiva de los agentes antipardeantes para inhibir la actividad enzimática y/o retardar el desarrollo de pardeamiento del puré de bananas, teniendo en cuenta los mismos parámetros que los evaluados en las muestras tratadas físicamente. Los agentes antipardeantes ensayados fueron ácido ascórbico (AA), ácido cítrico (AC) y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

Entre los tratamientos químicos aplicados individualmente en los purés de bananas almacenadas a 4°C, el AA resultó ser altamente efectivo en la preservación del color en el puré de bananas, evitando el pardeamiento, manteniendo la luminosidad, color amarillo y un tono constante, lo que resultó en un color más uniforme y estable en el tiempo. La actividad de la enzima PPO disminuyó un 80%, indicando un fuerte efecto inhibitorio y redujo, además la actividad de la enzima POD en un 46,19% al inicio. Respecto de la capacidad antioxidante, en las muestras tratadas con AA se pudo observar un aumento significativo comparadas con el control. El AC y el EDTA tuvieron efectos en el color del puré sólo en los primeros días de almacenamiento.

En base a los resultados de los tratamientos físicos y químicos más efectivos, y a los fines de desarrollar un método de control del pardeamiento del puré de bananas se analizó el efecto del tratamiento combinado de US y AA.

En los purés tratados con US+AA fueron mayores los efectos positivos que en los tratamientos individuales. Los valores de a^* y b^* fueron inferiores a los determinados en los purés control. Mientras que el parámetro colorimétrico L^* se mantuvo elevado durante todo el almacenamiento en las muestras tratadas. Se observó un importante efecto retardante en la aparición o el inicio del pardeamiento enzimático. Los valores del

índice de pardeamiento (IP) en las muestras tratadas fueron significativamente inferiores a las muestras control. Se observó un efecto inhibitorio en la actividad de la enzima PPO y una disminución significativa en la actividad de la enzima POD y se registraron incrementos significativos en la capacidad antioxidante en los primeros días del almacenamiento.

Además, en las pruebas sensoriales las muestras de puré de banana tratado con US+AA obtuvieron puntajes superiores al punto de corte fijado para todos los atributos evaluados, lo que indica que se trata de un producto de buena calidad sensorial, es visualmente homogéneo y tiene buena textura.

El tratamiento combinado US+AA y su posterior almacenamiento refrigerado a 4°C, sería una alternativa tecnológica viable para la elaboración de puré de bananas, con una vida útil extensa de al menos 20 días, de buena calidad organoléptica y nutricional.

Summary

Bananas are a valuable source of essential nutrients due to their low sodium content and high levels of potassium, provide calcium, iron, phosphorus, B₆ vitamin, soluble sugars and fiber. These compositional characteristics, along with their calorie content and ease of digestion, contribute to their nutritional importance.

However, in Formosa province, banana production faces challenges, particularly at the marketing stage, where fresh market quality parameters are often not met. This necessitates the exploration of industrialization as a potential solution to benefit primary producers.

Among various banana-derived products, mashed banana puree holds significant market potential within the food industry as an ingredient. However, a major challenge associated with this product is its susceptibility to color deterioration. This discoloration acts as a limiting factor in self-life and marketability.

The color of banana puree serves as a reliable indicator of quality. Browning reactions, triggered by various deterioration processes, generate undesirable brown pigments. These pigments not only detract from the product's visual appeal but also potentially compromise its nutritional and microbiological integrity. The browning reactions involve phenolic compounds, sugars, amino acids, proteins, and vitamins, leading to the formation of new compounds devoid of nutritional value.

Enzymatic browning, primarily catalyzed by polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzymes, significantly affects the quality of banana puree. This study aimed to identify the most suitable conditions or treatments to preserve banana puree color, considering their impact on surface color, PPO and POD enzyme activities, antioxidant capacity, and microbial load. Physical and chemical treatments were evaluated, as well as combinations thereof. Temperature and oxygen reduction are conventional methods, while

this study explored emerging technologies like ultraviolet-C (UV-C) radiation, microwave (MW), and ultrasound (US).

UV-C light demonstrated germicidal efficacy; however, it indirectly promoted browning. Doses of 1.97 kJ/m² partially inhibited POD activity. PPO enzymes was only inhibited immediately after treatment and then maintained its activity during storage.

MW treatment at 800 W for 25 seconds delayed browning by inactivating PPO enzyme, managing to preserve the color of the puree during storage, but resulted in significant loss of heat-sensitive phenolics compounds and antioxidant capacity. Conversely, US treatment at 40 kHz for 10 minutes emerged as the most promising physical approach due to its minimal impact on quality parameters and antioxidant properties. US treatment effectively minimized enzymatic browning, preserved color homogeneity, decreased PPO activity, and resulted in lower losses of phenol content and antioxidant capacity compared to purees treated with MW.

Both treatments, MW and US, had an evolution of the microbiological load like untreated puree, although they were effective in controlling the growth of molds and yeasts.

Chemical methods target enzymatic inhibition or substrate availability reduction. This study evaluated the efficacy of anti-browning agents (ascorbic acid (AA), citric acid (CA), and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in suppressing browning and enzyme activity.

Among these, AA (0.044 M) displayed the strongest inhibitory effect on PPO (80% decrease) and POD (46% decrease) activity, effectively preserving color luminosity and delaying browning. Furthermore, AA treatment significantly increased the puree's antioxidant capacity.

Building upon the most effective physical and chemical approaches, a combined US and AA treatment was evaluated for enhanced browning control.

Purees treated with US+AA exhibited superior color preservation compared to individual treatments. The combined treatment maintained elevated L* values (indicating lightness) throughout storage and significantly delayed enzymatic browning. Browning index values were also significantly lower in US+AA treated samples. Additionally, this treatment significantly reduced PPO and POD activity and increased antioxidant capacity, particularly during initial storage.

In addition, sensory evaluation revealed that US+AA treated banana puree obtained scores above the acceptability limit set for all the attributes evaluated, which indicates that it is a product of good sensory quality, is visually homogeneous and has a good texture.

The combined US+AA treatment and refrigerated storage at 4°C, would be a viable technological alternative to produce banana puree, with an extended shelf life of at least 20 days, with good organoleptic and nutritional quality.

I Introducción

I.1. Banana (*Musa cavendish*)

La banana es una fruta de una especie tropical y subtropical, que necesita una temperatura media de 26-27 °C, con lluvias prolongadas y regularmente distribuidas para su desarrollo. Estas condiciones se cumplen entre las latitudes 30° Norte y 30° Sur, y de los 1 a los 2 m de altitud. El crecimiento se detiene a temperaturas inferiores a 18 °C, produciéndose daños a temperaturas menores de 13 °C y mayores de 45 °C (Díaz y col., 2007). Las formas cultivadas pertenecen a especies nativas del sur de Asia, desde donde se difundió a países tropicales y subtropicales.

La banana no se conoció en el Mediterráneo como cultivo hasta el año 650 d. C. Los árabes la introdujeron en África durante sus expediciones en las cuales comerciaban y obtenían esclavos (Kepner, 1936). Cuando las costas de África Occidental fueron exploradas por los europeos en el siglo XV, ya existían hacía tiempo plantaciones de bananas. Los portugueses introdujeron las bananas en las Islas Canarias a principios del siglo XV, y de ahí pasaron a América.

A inicios del siglo XIX los campesinos del mundo tropical cultivaron muchas variedades de bananas, sobre todo en las regiones ecuatoriales, desde donde la planta se extendió hacia Norte y Sur, siendo explotada allá donde la temperatura, humedad y características del suelo permitían su adecuado desarrollo (Haarer y Esaín Escobar, 1966).

En el sudeste asiático el cultivo se desarrolló simultáneamente en Malasia y en las Islas de Indonesia. Sin embargo, el lugar exacto de origen no está completamente claro. La palabra “banano”, “banana” es de origen africano y deriva posiblemente de una contracción de las palabras nativas *bana*, *gbana*, *funana* y *bunave*, términos que

utilizaban para describirlo ya que el racimo de frutos que aparece a lo largo del tallo (raquis) de la inflorescencia se agrupan en “manos” y a los frutos individuales se los llama comúnmente “dedos”.

Se supone que los navegantes portugueses tratando de encontrar una ruta hacia China, hace más de 500 años, desembarcaron en Guinea, donde observaron que los nativos lo cultivaban y satisfechos por su excelente sabor se dedicaron a propagarlo en los territorios bajo su dominio manteniendo su nombre “banano”, “banana”; el que se ha perpetuado hasta nuestros días (Sotto Ballesteros, 2008).

En la actualidad se cultiva en toda América Central, el Caribe, en América del Sur (llegando hasta Argentina, Paraguay y la mayor parte de Brasil), en África y Asia. El banano cultivado está constituido por un número relativamente grande de clones partenocárpicos (reproducción sin semillas) del género *Musa* (Lobo y Fernández Roja, 2020). Abarca unas 50 especies del trópico caracterizadas por su crecimiento rápido y vigoroso.

El fruto, llamado banana, es conocido vulgarmente en España como plátano, pero en América, más frecuentemente, se denomina banana a la variedad de musáceas que se consume cruda y plátano a aquella que se consume cocida o asada por su alto contenido de almidón (Guerrero, 1993). El uso de los términos difiere entre países, por lo que se debe prestar atención a la información y a las interpretaciones de los estudios sobre los datos de producción de "bananas" a nivel mundial (Englberger y col., 2003).

En 1783, Linneo realizó la primera clasificación “científica” de las bananas, dándole el nombre de *Musa sapientum* a todas las bananas de postre caracterizadas por su sabor dulce en la madurez y por ser consumidas en fresco y otorgando el nombre de *Musa paradisiaca* al grupo de los plátanos con un elevado contenido de almidón que son consumidos tras su cocción. Sin embargo, hoy en día se sabe que estas dos especies no son en absoluto verdaderas especies, sino que ambas hacen referencia a

híbridos triploides del grupo AAB muy estrechamente relacionadas entre sí. Se tratan de nombre de uso general que no pueden ser utilizados para diferenciar las bananas de los plátanos.

Posteriormente muchos taxónomos utilizaron otros binomios latinos para clasificar las diferentes formas de bananos comestibles que se iban encontrando, por ejemplo, *Musa nana*, *Musa cavendishii*, *Musa rubra* y *Musa corniculata*. Según Robinson y Galán-Sauco (2012) todos estos nombres son incorrectos y ya en la actualidad no se emplean, porque muchos de ellos se utilizaban para bananas que eran simples mutaciones somáticas de otros cultivares más antiguos y estables.

El método moderno de clasificación de las bananas comestibles fue desarrollado por Simmonds y Shepherd (1955). Esta se basa en primer lugar en el supuesto de que la mayoría de las actuales bananas comestibles derivan originalmente de dos especies seminíferas silvestres, *M. acuminata* (genoma A) y *M. balbisiana* (genoma B), ambas nativas del Sudeste de Asia; y en segundo lugar en la ploidía o número cromosómico del cultivar.

Investigadores del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) sugieren que las bananas comercializadas en Formosa se pueden clasificar como *Musa cavendish* (figura I.1), por sus características fenotípicas, y al ser una especie poliploide presenta un alto nivel de esterilidad, siendo principalmente multiplicado por propagación asexual. Por tanto, se supone que la variabilidad genética es escasa entre las variedades comerciales (Ermini y col., 2018). Están situadas dentro del orden Escitamineas el cual posee seis familias y de ellas la banana comestible corresponde a las Musaceae y de género *Musa*.

Clasificación taxonómica (INTA)

ORDEN: Escitamineas

FAMILIA: Musaceae

GENERO: *Musa*

ESPECIE: *acuminata* (A)

SUBGRUPO: "cavendish"



Figura I.1- Bananas formoseñas (*Musa cavendish*)

El nombre *cavendish*, según la historia publicada por Leatherdale (2016), tiene su origen en Inglaterra, donde hace 180 años en la finca de Derbyshire, el jardinero jefe Joseph Paxton puso sus manos en un ejemplar importado de la isla Mauricio, en el océano Índico. Paxton cultivó esta planta en noviembre de 1835, y en el mes de mayo siguiente estaba cargada con más de 100 bananas y decidió llamarlas *Musa cavendish* por sus empleadores, ya que Cavendish es el nombre de la familia de los duques de Devonshire.

I.2. Producción bananera

A nivel mundial, en 2023 se produjeron 140 millones de toneladas de bananas en 5,9 millones de hectáreas (FAOSTAT, 2024). Las bananas se producen predominantemente en Asia, América Latina y África. Los mayores productores fueron India con 30,5 millones de toneladas métricas (MTM) y China con 11,2 millones de toneladas, pero la producción en ambos países se destina principalmente al mercado interno. Otros grandes productores son Indonesia (7,20 MTM), Brasil (6,7 MTM) y Ecuador (6,3 MTM) (Lobo y Montero-Calderón, 2020).

En la actualidad se cultiva en toda América Central, el Caribe, en América del Sur llegando hasta Argentina, Paraguay y la mayor parte de Brasil. En el noreste argentino la zona productora de cultivo de banana por excelencia se encuentra en la provincia de

Formosa, siendo el departamento Pilcomayo el epicentro del desarrollo de este cultivo. Se contabilizaban en esa zona unas 2000 ha en producción en manos de 500 productores, en su gran mayoría agricultores familiares (Molina, 2016).

El cultivo de banana en la Provincia de Formosa reviste de importancia, tanto económica como social (Baridón y col., 2017). En la década de los '90, ante la falta de rentabilidad del algodón, el cultivo de banana pasó a constituirse como la actividad de renta más importante en la Provincia. Tanto es así, que el nivel de producción llegó a representar un 50 % de la producción nacional, desarrollada principalmente en los departamentos de Pilcomayo y Pilagás (Molina y col., 2016).

I.2.1. Producción bananera en Formosa

La primera referencia sobre producción de banana en la Argentina data del año 1915 en la localidad de Calilegua, provincia de Jujuy; posteriormente hacia el año 1935 se introdujeron rizomas procedentes de las islas Canarias (España). Sin embargo, no es hasta el año 1960 donde la producción de las regiones subtropicales adquiere importancia comercial en el país. El crecimiento en el área de cultivo se produjo con la introducción de hijuelos desde Paraguay, sin ningún tipo de control en la identificación y condición fitosanitaria, a través de las familias que emigraban hacia la Argentina (Berardi, 1971).

Se estima que la producción de bananas en Argentina durante el año 2023 fue cercana a las 100.000 tn (Mercado Central de Bs. As., 2024) con un consumo anual de 12 Kg/habitante. En la figura I.2 se puede observar la evolución de la producción anual en el período 2000-2018.

En la provincia de Formosa, a partir del año 1955 ya se tenían plantaciones a nivel familiar y a principios de la década de 1960 experimentó un crecimiento vertiginoso para alcanzar las 7.500 ha en la década del setenta, posteriormente fue retrocediendo hasta alcanzar las 1.500 ha en la actualidad. La principal zona productora de esta provincia

se encuentra ubicada en el departamento de Pilcomayo, en la localidad de Laguna Naickneck y alrededores, abarcando parte del departamento de Pilagás (Mazacotte y col., 2011).

El cultivo de banana se produce en forma extensiva en la provincia de Formosa y hasta la actualidad aún no se ha industrializado. En la mayoría de los casos el objetivo de la producción, basada en la agricultura familiar, no es necesariamente alcanzar los requerimientos del mercado, dado que participan exclusivamente sólo en la producción del fruto. La selección de los frutos, el embalado y el envío a los mercados queda en manos de agentes intermediarios lo que genera una tensión permanente entre el precio de las bananas que se paga al productor y el que se maneja al final de la cadena productiva (Garziglia, 2017).

Desde fines de la década de 2000 se estima que salieron del sistema productivo entre 300 y 350 productores (figura I.2). Un diagnóstico de esta salida es la falta de rentabilidad, problemas de sequía y comercialización. En general, la fruta no cumple con las exigencias de calidad de los grandes mercados urbanos (Molina y col., 2016).

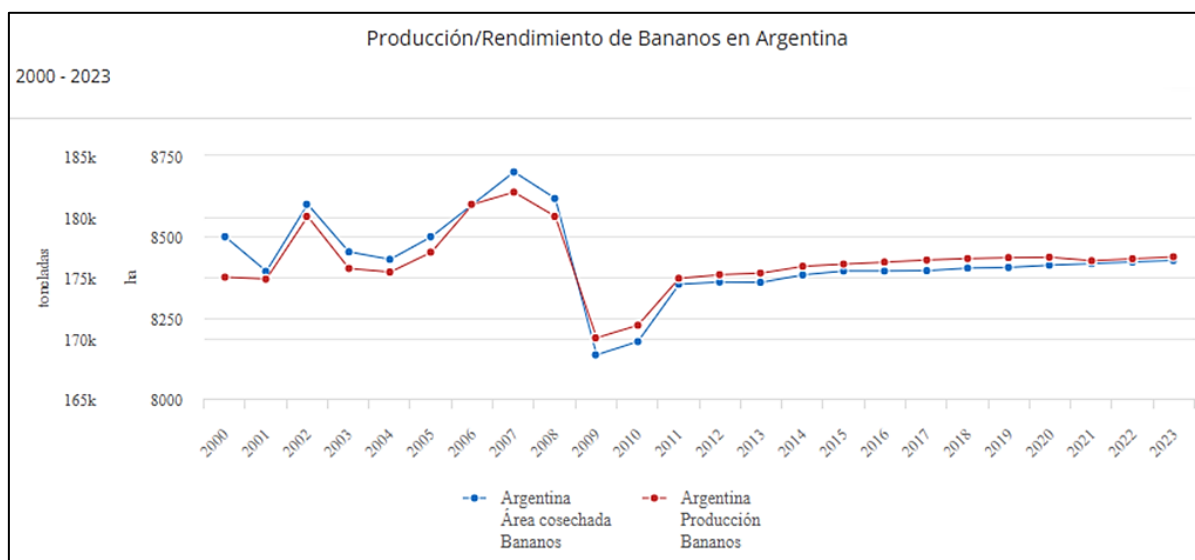


Figura I.2- Producción/Rendimiento de bananas en Argentina (2000-2023)
(FAOSTAT, 2024)

Se estima que la magnitud de las pérdidas poscosecha en frutas y hortalizas frescas es de 5 a 25% en países desarrollados y de 20 a 50% en países en desarrollo, dependiendo del producto, la variedad y las condiciones de manejo (Kader y col., 2007). Para reducir estas pérdidas se debe entender en primer lugar cuáles son los factores biológicos y ambientales involucrados en el deterioro y segundo, usar las técnicas poscosecha que retrasen la senescencia y mantengan lo mejor posible la calidad.

El manejo inadecuado en las etapas de cosecha, transporte y poscosecha pueden ocasionar golpes y heridas a las frutas, permitiendo la entrada a agentes patógenos y provocando cambios fisiológicos en respuesta al daño. Cabe mencionar que muchas veces los golpes o daños ocasionados a la fruta del banano en estado verde no son visibles durante este proceso, pero se hacen evidentes en la maduración (Ciro-Velásquez y Millán-Cardona, 2012).

Los parámetros de aceptación del producto fresco son cada vez más elevados. Aquellos frutos que no cumplan con las especificaciones de calidad, tamaño y madurez se los declara producto no conforme o de rechazo. La normativa CODEX STAN 205-1997 (FAO) define varias disposiciones relativas a la calidad de la banana en estado verde para garantizar su aptitud. Los requisitos mínimos que ha de cumplir el fruto, según el CODEX están relacionados con la forma de los dedos, aspecto de la cáscara (sin manchas, daños físicos o quemaduras), ausencia de materiales extraños (suciedad, pesticidas, metales pesados, plagas), entre otros.

I.2.2. Tecnologías y productos derivados

La calidad de las bananas después de la cosecha sólo puede conservarse, no mejorarse. Es importante entender que inmediatamente después de la cosecha, al ser tejidos vivos, están sujetos a cambios continuos (Eskin y Hoehn, 2013). La senescencia del producto provoca una desorganización progresiva del metabolismo celular que, para

mantener su integridad o extender su vida útil, necesita de la aplicación de estrategias tecnológicas que aseguren su preservación.

Desde el punto de vista del consumidor, algunos cambios son deseables mientras que la mayoría no lo son. Los cambios en poscosecha en productos frescos no pueden ser detenidos, pero pueden ser disminuidos y/o retardados dentro de ciertos límites (Kader y col., 2007).

Desde el Gobierno Nacional, a través del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), se promueve la generación de valor agregado en origen. Esto implica que la producción de bananas que presenta inconvenientes para su comercialización, por no llegar a los parámetros de calidad que exige el mercado de consumo en fresco, pueda ser industrializada, resultando de este modo beneficioso para el productor primario. De los productos que se pueden elaborar a partir de la banana, uno de los más importantes en el mercado es el puré de banana. Dicho producto es empleado en la industria alimenticia como parte de los ingredientes, en productos tales como: jugos frutales, licuados y yogures bebibles, entre otros.

La escasa industrialización (que podría permitir la colocación de excedentes de mercado por calidad insuficiente) hace que frecuentemente exista una excesiva concentración estacional en la oferta de esta fruta, especialmente en la temporada estival. Y como resultado se deben ajustar los precios con una reducción, por competencia no controlada, lo que genera situaciones de venta por debajo del costo (Molina y col., 2016).

En el mercado interno, las bananas de producción local deben competir con las importadas, principalmente de origen ecuatoriano, seguido por las brasileñas (Molina, 2016). Las longitudes de estas bananas importadas son de 20 a 22 cm y los calibres van de 3,9 a 4,6 cm según estándares de exportación de Ecuador (Balcázar, 2014) mientras que las bananas cultivadas en Formosa alcanzan entre 12 y 15 cm de longitud y de 2 a 3,5 cm de calibre.

Las bananas producidas en Formosa muestran claras diferencias en las características morfológicas en relación con las bananas de Ecuador, sin embargo, los parámetros morfológicos no guardan relación directa con la composición química. Forster y col. (2002), compararon las bananas de Tenerife (España) con las ecuatorianas y encontraron que, si bien las bananas cultivadas en España eran de tamaño mucho más pequeño, su composición nutricional era notablemente diferente, teniendo un mayor contenido de proteínas, cenizas, ácido ascórbico y azúcares totales.

I.2.3. Alternativas tecnológicas

Con el advenimiento de las nuevas tecnologías de procesamiento de alimentos, aquellas frutas que no son utilizadas para su consumo en fresco pueden ser destinadas a varios procesos para la obtención de diferentes derivados que actualmente su demanda en el mercado se encuentra en auge principalmente como materia prima (figura I.3).

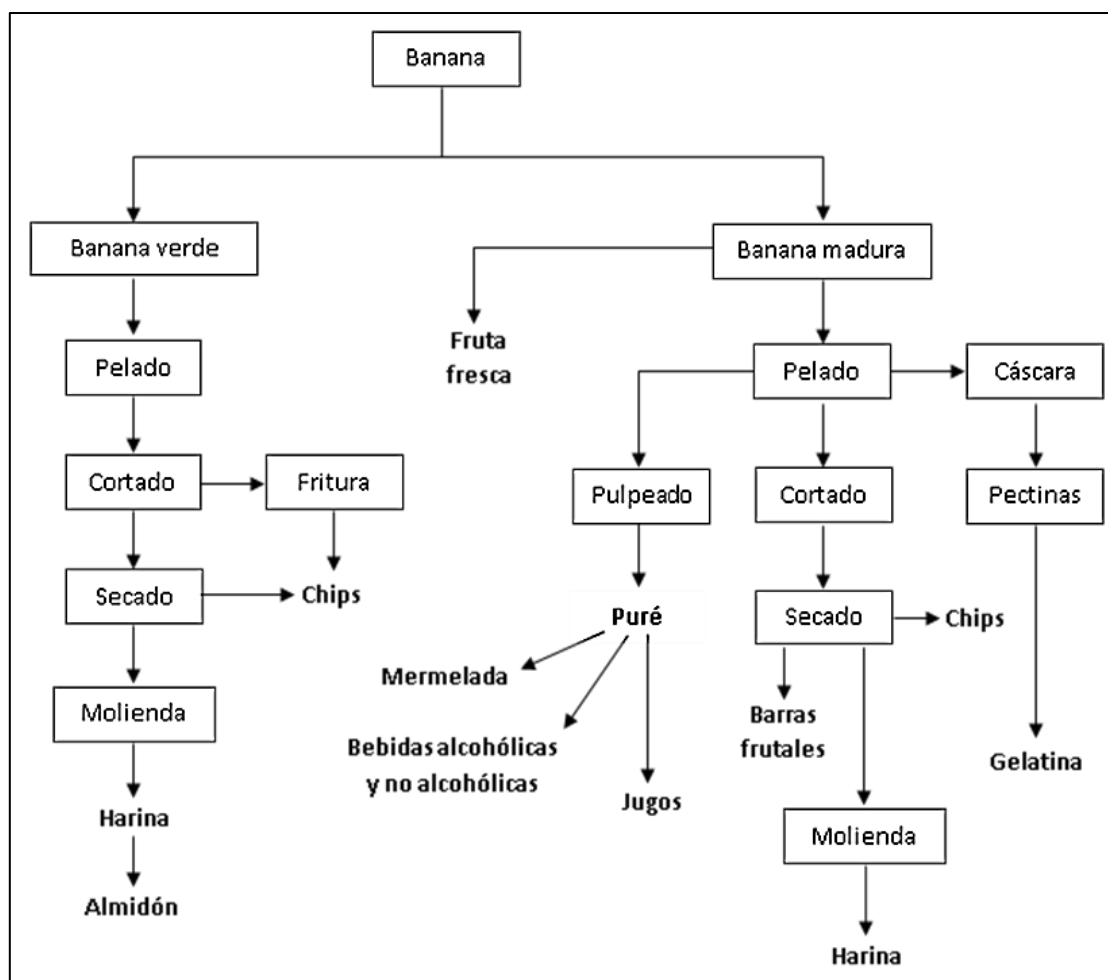


Figura I.3- Flujograma de productos derivados de la banana (Mohapatra y col., 2011)

La banana se puede comer como fruta fresca o procesada para una variedad de productos como chips, jugos, batidos, bebidas fermentadas y cerveza. Las tecnologías emergentes han permitido garantizar la inocuidad y la calidad de los productos procesados. Gran parte de estas nuevas tecnologías, como microondas, envasado al vacío, infrarrojo, ultrasonido, alta presión, pulsos eléctricos, irradiación gamma y UV-C ya se han aplicado a frutas como la manzana (Al Faruq y col., 2018; Fonteles y col., 2016; Jang y Moon, 2011; Gómez y col., 2010; Picouet y col., 2009) y las paltas (Bi y col., 2015; Woolf y col., 2013), que tienen perfiles enzimáticos similares a los de la banana. Estas aplicaciones han resultado en productos de mejor calidad en términos de retención de nutrientes, inactivación enzimática y microbiana. Por otra parte, se

presentan como alternativa a los procesos tradicionales, para reemplazar las operaciones térmicas como blanqueamiento, pasteurización, esterilización y deshidratación. Aunque las tecnologías de procesamiento convencionales mejoran la vida útil de los productos derivados de frutas, las propiedades sensoriales, los compuestos bioactivos y las pérdidas de nutrientes representan una desventaja considerable para esos productos.

I.3. Puré de bananas

Los hábitos de la alimentación humana se han modificado en estas dos últimas décadas y el actual ritmo de vida, con escaso tiempo para preparar comidas equilibradas, ha provocado la demanda de productos naturales frescos, saludables y listos para consumir (Hernández y col., 2009).

El puré de bananas es un producto procesado de la pulpa, esto implica realizar ciertas operaciones para asegurar la inocuidad y la calidad del producto sin alterar significativamente sus características originales. Este proceso generalmente implica la trituración o molienda de las bananas para obtener una consistencia suave y homogénea junto con la aplicación de técnicas de procesamiento suaves tendientes a preservar tanto como sea posible las características sensoriales y nutricionales del producto fresco, al tiempo que se extiende su vida.

Se estima que más del 20% de las bananas se rechazan cada año debido a que no se cumplen los criterios de calidad (principalmente la apariencia), lo que las hace no aptas para la venta al por menor (Zou y col., 2023). Las bananas de menor calidad, que no cumplen con los estándares para la venta, pueden usarse como ingrediente alimentario en la fabricación de una variedad de alimentos, proporcionando a los agricultores y elaboradores, valor agregado. El principal producto procesado de banana disponible comercialmente y que se utiliza ampliamente en todo el mundo es el puré, particularmente cuando se trata ingrediente para la producción de alimentos como los

infantiles, productos lácteos y productos de panadería (Yap y col., 2017). Además, debido a su alto contenido en fibra, los purés de frutas son nutricionalmente mejores que los jugos y, por lo tanto, también pueden ser utilizados por ejemplo como snack para el público en general.

El puré de bananas se obtiene por modificaciones de tipo físico, a pesar de lo cual mantiene algunas características sensoriales similares a las del producto original, aunque sufre algunos cambios debido a reacciones químicas y enzimáticas residuales ya que se mantienen activos ciertos componentes bioquímicos.

I.4. Pardeamiento enzimático

La apariencia, el sabor, la textura y el valor nutricional son cuatro atributos considerados por los consumidores al momento de elegir alimentos. Y el color es uno de los principales atributos de la apariencia utilizados por los consumidores para evaluar la calidad de los alimentos. El color es el resultado de una variedad de factores, tanto endógenos como exógenos (Marshall y col., 2000). Naturalmente puede ser influenciado por pigmentos presentes en los mismos alimentos como las clorofilas, carotenoides y antocianinas, o por pigmentos resultantes de reacciones tanto enzimáticas como no enzimáticas (Piagentini y col., 2012).

El pardeamiento enzimático es una de las reacciones de color más importantes que afectan a las frutas y hortalizas. Dicho fenómeno es una consecuencia del estrés físico, químico o microbiológico, que se puede producir durante la manipulación, el almacenamiento y el procesamiento (Corzo-Martínez y col., 2012).

El pardeamiento enzimático está principalmente relacionado con la oxidación de compuestos fenólicos hacia quinonas, que son moléculas altamente electrofílicas que pueden polimerizar dando lugar a la formación de pigmentos como la melanina, la cual le otorga un color marrón o pardo característico (Singh y col., 2018). El grado de

pardeamiento depende de la naturaleza y la cantidad de compuestos fenólicos, la presencia de oxígeno, sustancias reductoras, iones metálicos, pH, temperatura, y la actividad de enzimas oxidativas (Yoruk y Marshall, 2003).

En tejidos intactos, las enzimas oxidativas y sus sustratos fenólicos se localizan en compartimentos separados, plastidios y vacuolas, respectivamente (Mayer, 2006). La disrupción de la integridad celular que ocurre naturalmente durante la senescencia o como resultado del daño físico del tejido vegetal pone en contacto las enzimas con sus sustratos produciendo el llamado pardeamiento enzimático observado en frutas y vegetales con avanzado estado de maduración, o sometidos a estrés mecánico por golpes o magulladuras, en respuesta al corte y como consecuencia de enfermedades y fisiopatías (Casado-Vela y col., 2005). Esta reacción es una respuesta natural para reparar el tejido dañado, que tiene efectos indeseables en los productos procesados.

En la oxidación de compuestos fenólicos, intervienen dos enzimas que son determinantes en la calidad de frutos y vegetales, por la formación de melaninas que oscurecen los frutos. Estas enzimas son la polifenol oxidasa (PPO, EC: 1.14.18.1) y la peroxidasa (POD, EC: 1.11.1.7). A pesar de que la enzima POD está ampliamente distribuida en el reino vegetal, su papel en el pardeamiento enzimático de frutos y vegetales esta todavía bajo discusión, debido a que el nivel de H_2O_2 interno en las plantas limita la actividad peroxidasa (Jiang y col., 2016). Sin embargo, se ha propuesto que la enzima PPO puede actuar como promotor de la enzima POD dado que en las reacciones de oxidación de compuestos fenólicos por parte de la enzima PPO se genera H_2O_2 (Subramanian y col., 1999; Tomás-Barberán y Espín, 2001). El estado antioxidante de diferentes frutos y vegetales puede decrecer por la oxidación directa de estos en presencia de las enzimas PPO y POD (Morante y col., 2014).

La susceptibilidad al pardeamiento enzimático está en gran parte determinada genéticamente, y puede variar entre los mismos cultivares. Además de las diferencias varietales, dentro de un mismo producto también se encuentran diferencias en su

composición lo que determina diferentes susceptibilidades (Casado-Vela y col., 2005). Algunos tejidos pueden tener una elevada expresión de la enzima PPO y/o una alta concentración de sustratos fenólicos que, en determinadas condiciones, pueden significar una mayor susceptibilidad. Además, la actividad de la enzima PPO podría variar de manera importante entre cultivares cosechados en la misma época si poseen distinto grado de madurez, siendo los tejidos más jóvenes aquellos con mayor actividad enzimática (Amodio y col., 2011).

I.4.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son constituyentes del metabolismo secundario de plantas, presentan estructuras y funciones diversas, pero en general, poseen un anillo aromático que lleva uno o más sustituyentes hidroxilo (Singh y col., 2016). La composición fenólica de las frutas está determinada por factores genéticos y ambientales, pero puede modificarse por reacciones oxidativas, entre otros factores (Singh y col., 2018). Se sintetizan durante el desarrollo de la planta, pero su producción se incrementa en condiciones de estrés mediante la activación de la enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL, EC: 4.3.1.5). Por lo tanto, estos compuestos resultan ser determinantes en los mecanismos de defensa y adaptación de las plantas (Mesquita y Queiroz, 2013), entre los que se pueden mencionar la protección frente a radiación ultravioleta y como respuesta al estrés biótico (propiedades antimicrobianas, sellado de heridas por lignificación, etc.) (Rivero y col., 2001; Enyedi y col., 1992; Saltveit, 2000; Ke y Salveit, 1988).

El rol ecológico y fisiológico de los fenoles continúa en controversia. Mahanil y col. (2008) obtuvieron resultados que sugieren que la oxidación fenólica mediada por PPO conduce, además de la formación de quinonas, a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (radicales superóxidos, peróxido de hidrógeno, etc.) capaces de

degradar o dañar nutrientes esenciales y moléculas estructurales (Camarena-Gutiérrez, 2006).

Los vegetales contienen una serie de compuestos fenólicos (figura I.4) que pueden actuar como sustrato de enzimas oxidativas intervinientes en el pardeamiento enzimático, entre estos los más importantes son: fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados del ácido cinámico y flavonoides (Lee y Whitaker, 1995; Tomás-Barberán y Espín, 2001). Según Marshall y col. (2000), en las bananas se pueden encontrar compuestos fenólicos como dopamina, leucodelphinidina y leucocianidina, ácido clorogénico y cafeico.

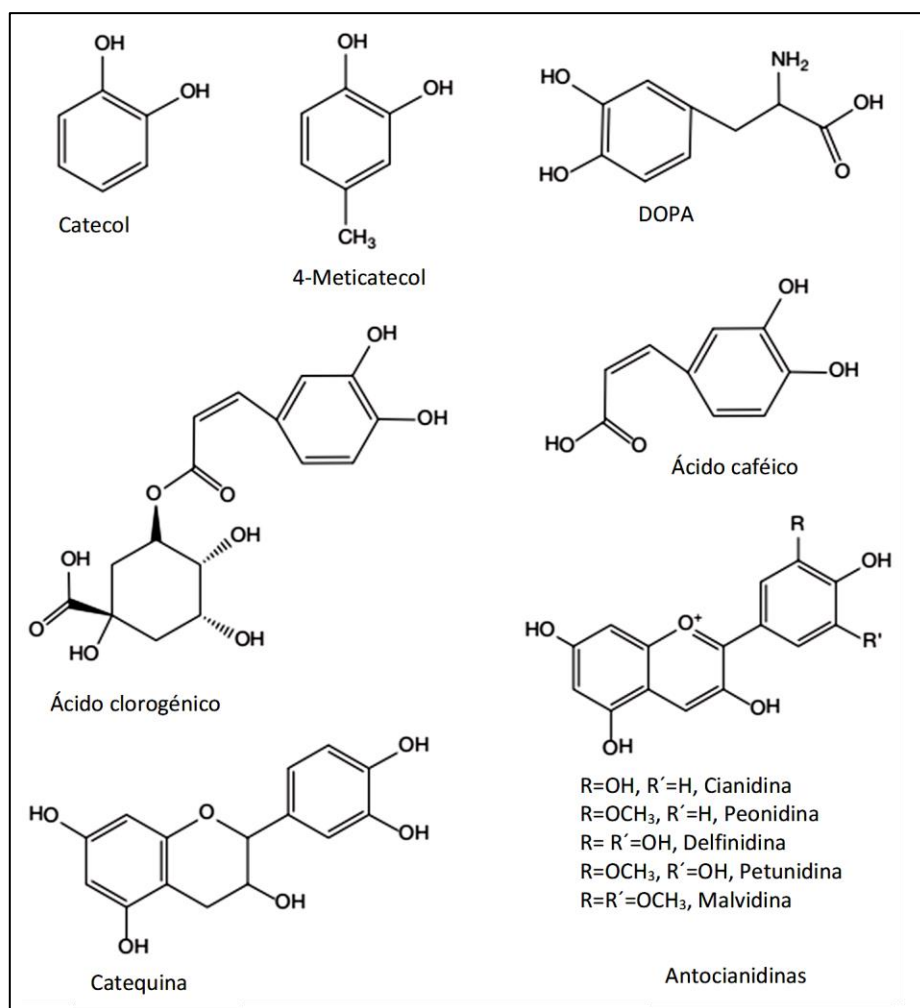


Figura I.4- Estructura de algunos sustratos de la enzima PPO encontrados en frutos (Jiang y col., 2016)

I.4.2. Polifenol oxidasa

Las enzimas polifenol oxidasas (PPO) son un grupo de metaloenzimas de cobre que pertenecen a la familia de las oxidorreductasas, están presentes en el lumen, las mitocondrias, los peroxisomas, la membrana tilacoide y el cloroplasto de las células vegetales (figura I.5).

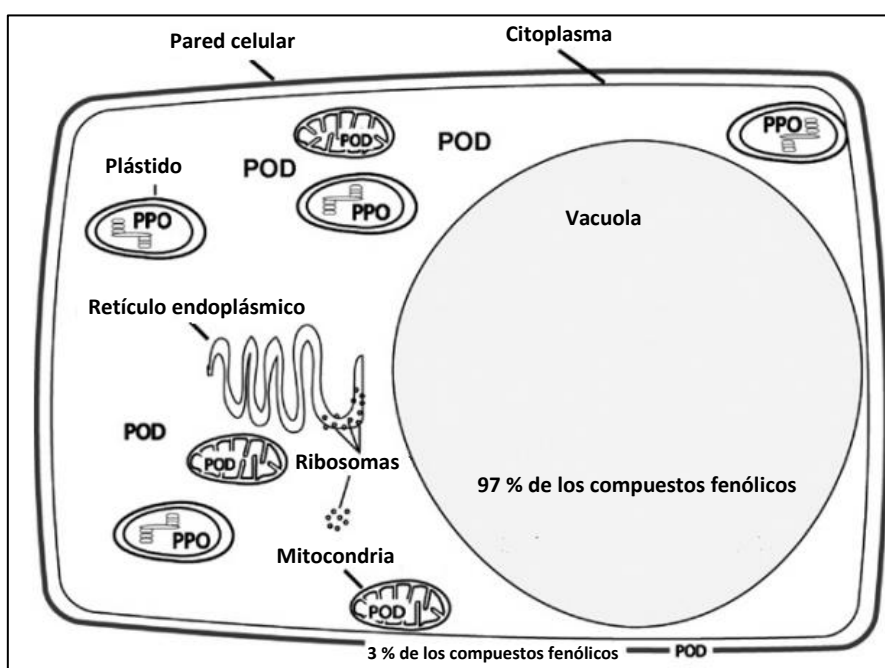


Figura I.5- Localización interna y externa de compuestos fenólicos y enzimas oxidantes (PPO y POD) en una célula vegetal típica (Adaptado de Toivonen y Brummell, 2008).

Se refiere a la PPO como “grupo” de enzimas debido a que la Comisión de Enzimas (Enzyme Commission, EC) (Ako y Nip, 2006) definió por convención que en la reacción de pardeamiento intervienen enzimas que poseen tres actividades diferentes conectadas entre sí, la primera, actividad cresolasa o monofenol monoxigenasa o tirosinasa EC: 1.14.18.1, la cual inicia la reacción de oscurecimiento, donde los monofenoles se hidroxilan a difenoles (figura I.6); luego la segunda y tercera (oxidación de difenoles a quinonas) que difieren dependiendo de la posición de los grupos hidroxilo de sus sustratos: *o*-difenol oxidasa o catecolasa o catecol oxidasa EC: 1.10.3.2 (figura

I.7-A), y la *p*-difenolasa o lacasa EC 1.10.3.1 (figura I.7-B) (Jeske y col., 2019; Mezquita y Queiroz, 2013).

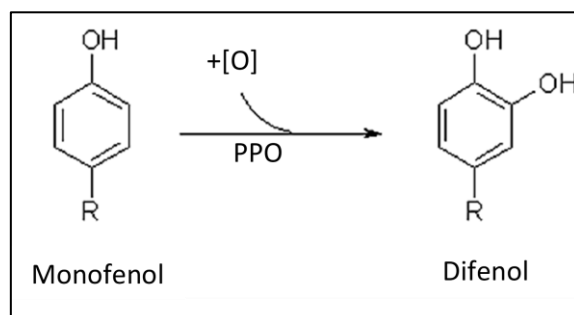


Figura I.6- Formación de difenol catalizada por PPO.

Las PPO catalizan la formación de pigmentos pardos, captura de oxígeno y mecanismo de defensa contra patógenos vegetales e insectos herbívoros. Los compuestos fenólicos pueden actuar como precursores en la formación de barreras físicas polifenólicas, limitando el ingreso de patógenos (Peng y col., 2019; Anaya-Esparza y col., 2017; Morante y col., 2014). Las quinonas formadas por las PPO pueden unir proteínas vegetales, reduciendo la digestibilidad de las proteínas y su valor nutritivo para herbívoros (Bobo-García y col., 2019; Schieber, 2018).

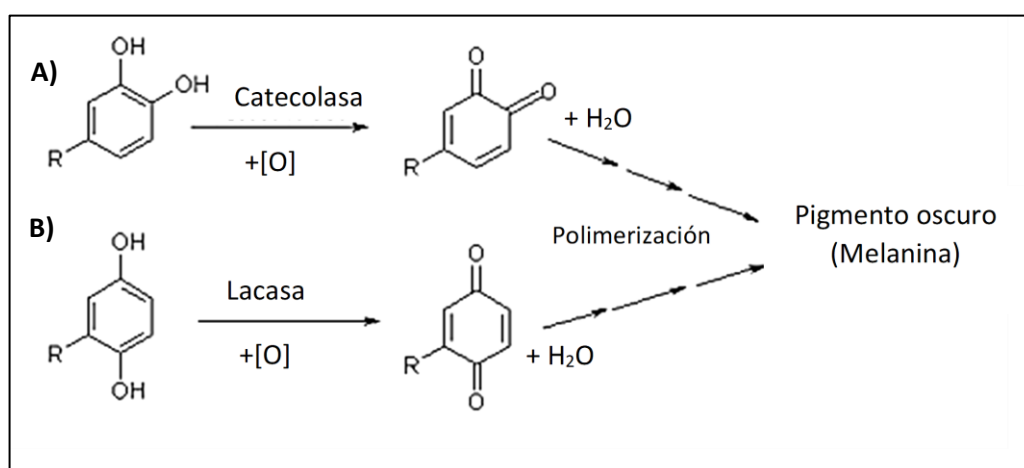


Figura I.7- A) Formación de o- difenol mediado por catecolasa; B) Formación de p-difenol mediado por lacasa.

I.4.3. Peroxidasa

La peroxidasa o POD es una oxidoreductasa que cataliza una reacción en la cual el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) actúa como el aceptor y otro compuesto actúa como el donante de los átomos de hidrógeno (Schomburg y col., 2017). Estas enzimas son altamente específicas para el H_2O_2 , sin embargo, aceptan diversos compuestos, pueden actuar como dadores de hidrógeno, incluidos los fenoles (Zhang y col., 2005). La POD es capaz de oxidar derivados hidroxicinámicos y flavanos, es decir, las principales estructuras fenólicas implicadas en el pardeamiento enzimático en frutas y vegetales (Richard-Forget y Gaillard, 1997).

La evidencia recientemente recopilada indica claramente que la POD ejerce un efecto sinérgico en las reacciones de pardeamiento mediadas por PPO (Jiang y col., 2016) y si bien el mecanismo de este pardeamiento acoplado a PPO es poco conocido, es posible que la generación de quinonas mediada por PPO pueda conducir a la acumulación de H_2O_2 , lo que proporciona una mayor concentración de esta especie de radicales libres, lo que permite la oxidación de compuestos fenólicos mediada por POD (Serrano Martinez y col., 2010).

I.4.4. Evaluación del pardeamiento

El color puede medirse objetiva y rápidamente mediante técnicas de análisis de imágenes digitalizadas, también conocidas como sistemas de visión por computadora (*Computer Vision Systems, o CVS*) (Amodio, Cabezas-Serrano y Colelli, 2011). Estos sistemas ofrecen una ventaja sobre las técnicas convencionales (colorímetros y espectrofotómetros), como la posibilidad de analizar cada píxel de toda la superficie del alimento y cuantificar las características de superficies de color heterogéneas (Cubero y col., 2011; Cho y col., 2016; Goñi y Salvadori, 2017; Tomasević y col., 2019).

El CVS consta de una cámara de fotos digital para la adquisición de imágenes, una fuente de luz y un software de procesamiento de imágenes (Ferreira y Rasband, 2012). A partir de la imagen RGB (Red, Green, Blue), el software puede convertir la imagen original a otros espacios de color como $L^* a^* b^*$ (León y col., 2006).

El espacio de color $L^* a^* b^*$, o CIELab, es un estándar internacional para mediciones de color, adoptado por la Comisión Internacional de la Iluminación (conocida por la sigla CIE, de su nombre en francés Commission internationale de l'éclairage). L^* es el componente de luminancia o luminosidad, que es la propiedad según la cual cada color puede considerarse equivalente a un miembro de la escala de grises, entre blanco y negro, tomando valores dentro del rango 0-100 (figura I.8). El parámetro a^* toma valores positivos para rojo y valores negativos para verde, mientras que b^* toma valores positivos para el color amarillo y valores negativos para el azul (Granato y Masson, 2010; MacDougall, 2010).

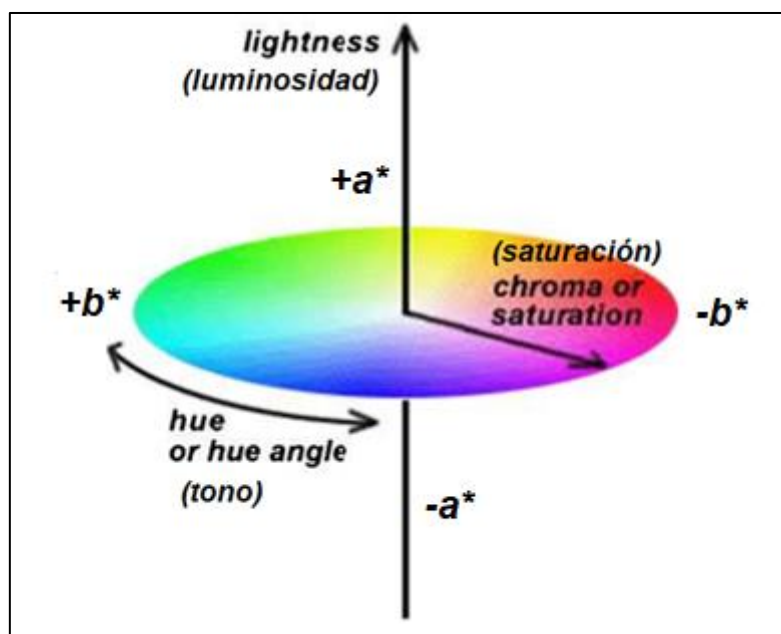


Figura I.8- Espacio CIELab (Pathare y col., 2013)

El espacio $L^* a^* b^*$ es perceptivamente uniforme, es decir, se corresponde aproximadamente al color percibido por el ojo humano (Pathare y col., 2013). Para realizar una caracterización detallada de la imagen de un alimento y, por lo tanto, evaluar con mayor precisión su calidad, es necesario conocer el valor de color de cada píxel de su superficie (Mendoza y Aguilera, 2004). Sin embargo, en la actualidad los colorímetros comerciales disponibles miden $L^* a^* b^*$ en una superficie bastante pequeña ($\sim 2 \text{ cm}^2$) y, por lo tanto, sus medidas no son muy representativas en materiales heterogéneos como la mayoría de los alimentos y, además, el análisis global de la superficie del alimento se vuelve más difícil (Wu y Sun, 2013).

El pardeamiento enzimático se ha cuantificado utilizando indicadores a través de parámetros bioquímicos como por ejemplo la actividad de polifenol oxidasa y los compuestos fenólicos (Holzwarth y col., 2013; Jang y Moon, 2011; Lee, 2007) o indicadores físicos como el color de la superficie, el cual es una forma simple y efectiva de medir el fenómeno (Piagentini y col., 2012; Lunadei y col., 2011).

En el caso de los parámetros físicos, Buera y col. (1986) han desarrollado un índice de pardeamiento que estima la pureza del color marrón en frutas, basados en las coordenadas $L^* a^* b^*$.

En la evaluación de los cambios de color no existe un criterio unificado en la elección del parámetro de color que detecte de manera más sensible esos cambios relacionados al pardeamiento ya que dependen en gran medida del material vegetal en estudio (Piagentini y col. 2012).

I.5. Alternativas tecnológicas para la prevención del pardeamiento enzimático

Las características organolépticas y bioquímicas de las frutas y vegetales se alteran por la formación de pigmentos (Artés y col., 2007). La tasa de pardeamiento

enzimático en frutas y vegetales está determinada por el contenido de polifenol oxidasa en los tejidos, el contenido fenólico, el pH, la temperatura y la disponibilidad de oxígeno (Velderrain-Rodríguez y col., 2015).

A lo largo de los años se han desarrollado diversas técnicas para controlar estas reacciones enzimáticas indeseables (Jiménez-Sánchez y col., 2017; Oms-Oliu y col., 2010; Rico y col., 2007). Las tecnologías aplicadas tienen como objetivo modificar alguna de las variables implicadas en el desarrollo del fenómeno de pardeamiento, como la presión de oxígeno, disponibilidad del catión cobre, sustratos, productos o incluso la propia enzima (Wang y col., 2014; Ghidelli y col., 2013; Huang y col., 2013).

I.5.1. Tecnologías convencionales

El principio de la inhibición del pardeamiento enzimático implica la inhibición total o parcial de la actividad de la PPO, la inhibición de la oxidación de los compuestos fenólicos y la disminución o la eliminación del contenido de O₂.

Tratamientos térmicos

El tratamiento con calor es ampliamente utilizado para estabilizar alimentos debido a su capacidad para destruir microorganismos e inactivar las enzimas. El escaldado a vapor es una de las metodologías térmicas más eficazmente aplicadas para controlar el pardeamiento enzimático en frutas y verduras enlatadas o congeladas. Sin embargo, el escaldado con vapor no resulta conveniente para prevenir el pardeamiento en alimentos frescos durante su aplicación se pueden perder vitaminas termolábiles y minerales por escurrido y fenómenos que no son deseables en estos productos, disminuyendo la apariencia a fresco, sabor y textura (Cano y col., 1990).

Las temperaturas aplicadas en estos tipos de tratamientos varían de acuerdo con la termoestabilidad de la enzima que se va a inactivar, así como con la naturaleza del

producto alimenticio. La pasteurización se realiza generalmente a temperaturas que oscilan entre 60 °C y 85 °C, mientras que las técnicas de escaldado a menudo se operan a temperaturas que oscilan entre 70 °C y 105 °C o más. En general, la exposición de la polifenol oxidasa a temperaturas en el rango de 70-90 °C resulta en la desnaturalización de la enzima con la pérdida de su actividad catalítica (Cheng y col., 2013). Aun así, en términos nutricionales puede considerarse perjudicial ya que produce pérdidas en vitaminas, sabores, colores, texturas, carbohidratos y otros componentes solubles en agua (Cao y col., 2018). Los requerimientos para grandes cantidades de agua y energía, sumado a los inconvenientes en la eliminación de desechos, hacen que el escaldado presente desventajas técnicas.

Refrigeración

Cuando los vegetales se exponen a condiciones de temperaturas bajas se produce un enlentecimiento de la actividad de aquellas enzimas que catalizan reacciones de deterioro y simultáneamente disminuye la velocidad de reproducción y crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes. Se debe tener en cuenta además que algunos vegetales son propensos a sufrir lesiones por frío (Pongprasert y col., 2011) y, por lo tanto, no deben almacenarse por debajo de sus respectivas temperaturas críticas

La velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se controla en gran medida por la temperatura. A bajas temperaturas, la energía cinética reducida de las moléculas reactantes produce una disminución tanto de la movilidad como de las "colisiones efectivas" necesarias para la formación de complejos enzima-sustrato y sus productos (Ngadi y col., 2012; Alzamora y col., 2016).

Por cada 10 °C de aumento de temperatura dentro de los rangos de importancia biológica, hay un aumento de dos veces en la velocidad de una reacción catalizada por

enzimas, lo que se conoce como el coeficiente de temperatura (Q_{10}). Contrariamente, por cada 10 °C de reducción de temperatura se produce una disminución en la tasa de actividad biológica (Sepúlveda Benavides, 2010).

Por ello los vegetales procesados deben mantenerse a temperatura baja durante todas las etapas del proceso productivo; la refrigeración debe ser continua y actuar sinérgicamente con otros métodos para garantizar la conservación de los productos (Parzanese, 2012).

I.5.2. Tecnologías emergentes

Se han propuesto estrategias tecnológicas como alternativas para evitar o retardar el pardeamiento enzimático y preservar la calidad de los productos, tales como la luz ultravioleta, atmósferas controladas y modificadas, ultrasonido, recubrimientos comestibles y tratamientos térmicos no convencionales como las microondas (Yeoh y Ali, 2017; Gómez y col., 2010; Alothman y col., 2009).

Los tratamientos térmicos de pasteurización suave para la conservación de alimentos se caracterizan por la baja calidad nutricional del producto final. Además, estos métodos no están optimizados para alimentos sólidos debido a la lenta transferencia de calor de la superficie al punto frío, a menudo en el centro del producto (Cullen y col., 2012). El objetivo de las tecnologías modernas de procesamiento de alimentos es mantener las propiedades alimenticias organolépticas y nutricionales combinadas con el aseguramiento de la inocuidad alimentaria.

En virtud de los efectos indeseados de los tratamientos térmicos convencionales, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías suaves o emergentes, que son poco agresivos y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos sin perder sus cualidades en materia de inocuidad.

Dentro de este grupo de tecnologías, las más relevantes para este estudio son: luz ultravioleta C, ultrasonido y microondas.

La tecnología de luz ultravioleta-C es un tratamiento no térmico, simple y económico que se aplica en la industria alimentaria para la desinfección (Ahmed, 2020). Pero, por otro lado, también se ha observado que en bananas cortadas elevó los niveles de fenoles y flavonoides después de 10 minutos de irradiación con UV-C a dosis de $2,158 \text{ kJ/m}^2$ (Allothman y col., 2009).

El ultrasonido por su parte inactiva las enzimas oxidativas debido a los efectos mecánicos producidos por el fenómeno de la cavitación (Lee y Feng, 2011; De São José y col., 2014). De la misma manera, otros mecanismos actúan cuando se aplica el ultrasonido como efectos térmicos, estrés mecánico, ondas de choque por implosión y producción de radicales libres (Zafra-Rojas y col., 2013).

Respecto del calentamiento con microondas se ha demostrado que difiere ampliamente del convencional en que tiene una dinámica más rápida, sin sobrecalentar la superficie y es más directa y uniforme, a lo que se denomina calentamiento volumétrico (Coronel y col., 2009).

Luz Ultravioleta C

La luz ultravioleta (UV) es un tipo de radiación no ionizante que en el espectro electromagnético corresponde a la radiación situada entre longitudes de onda de 100 a 400 nm (figura I.9). La UV se clasifica, según la longitud de onda, en tres tipos: UV-A (315–400 nm), UV-B (280–315 nm) y UV-C (100–280 nm). La irradiación UV-C a 254 nm tiene una de las acciones germicidas más elevadas, y se usa principalmente para la descontaminación de superficies y para controlar microorganismos, preservando así la calidad en productos enteros y procesados (Velderrain-Rodríguez y col., 2015). Se ha informado que a dosis bajas de radiación UV-C se estimulan reacciones beneficiosas en

frutos enteros, y este fenómeno se conoce como hormesis (Shama y Alderson, 2005). Estos efectos incluyen retraso de la senescencia y maduración de la fruta, e inducción de defensas naturales contra hongos y bacterias.

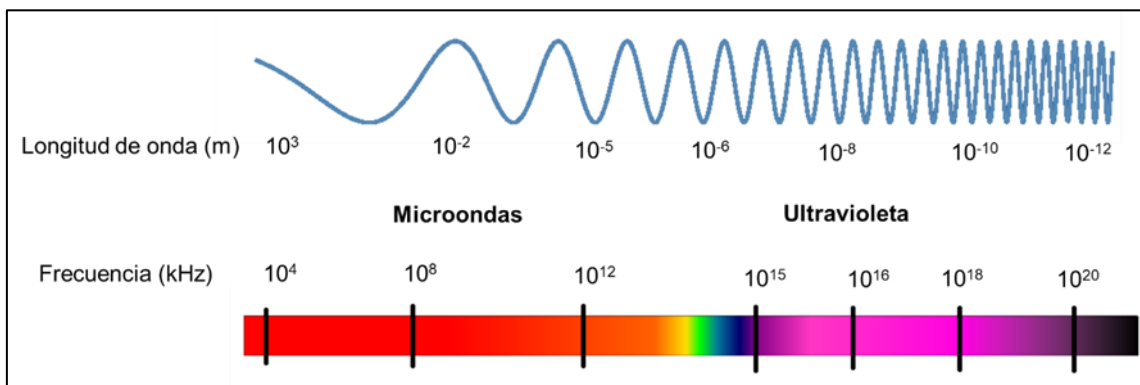


Figura I.9- Subdivisiones del espectro Ultravioleta y sus aplicaciones (Hinds y col., 2019)

El principal efecto que genera la luz UV-C sobre los microorganismos es la formación de dímeros de timina dañando la cadena de ADN e inactivando así los procesos de crecimiento y reproducción microbiana (Hinds y col., 2019). La alta capacidad del ADN de absorber la radiación UV-C se debe a sus bases nitrogenadas, purinas y pirimidinas, siendo la más sensible la timina (Antonio-Gutiérrez y col., 2019).

La aplicación de radiación UV-C induce un estrés que estimula la activación y promueve la síntesis de fenilalanina amonio-liase (PAL), una enzima que desempeña un papel clave en la síntesis de especies químicas antifúngicas tales como fitoalexinas (scoparona y resveratrol), flavonoides y enzimas degradantes de la pared celular fúngicas (quitinasas, glucanasas) (Mohamed y col., 2017). A su vez, la estimulación del sistema de defensa de la planta también puede desencadenar la acumulación de estos compuestos y otros fitoquímicos, como los carotenoides y la vitamina C, que presentan un potencial antioxidante y mejoran el estado nutricional de los productos (Ruiz López, Qüesta y Rodríguez, 2010).

Ultrasonido

El ultrasonido puede causar la inactivación de muchas enzimas y es atribuido principalmente a los efectos mecánicos y químicos del fenómeno de cavitación (Patist y Bates, 2008). El colapso de las burbujas está acompañado por un aumento local extremo de la presión (1,000 MPa). Además, el ultrasonido hace que las burbujas de cavitación estable vibren, creando ondas de choque que causan una fuerza de corte y microtrasmisión en el líquido adyacente (figura I.10) (Lee y Feng, 2011).

En estas condiciones extremas, la sonicación podría causar la ruptura de los enlaces de hidrógeno y las interacciones de Van der Waals en las cadenas polipeptídicas, lo que lleva a la modificación de la estructura secundaria y terciaria de la proteína. Con tales cambios en la estructura de la proteína, la actividad biológica de la enzima generalmente se pierde (Mawson y col., 2011). Además, el efecto mecánico del sonicado puede contribuir a la preservación de alimentos ya que rompe las paredes celulares y las membranas de los microorganismos presentes en ellos (Bora, Handique y Sit 2017).

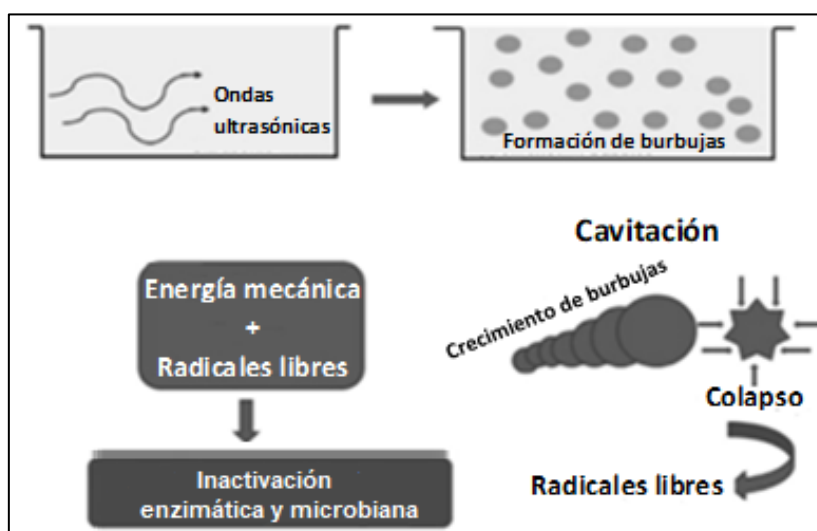


Figura I.10- Ondas ultrasónicas y el fenómeno de cavitación (De São José y col., 2014).

Como se observa en el esquema de la figura I.11, el tratamiento con ultrasonido sobre la estructura de la PPO genera un proceso de disociación y posterior agregación que impiden la reacción catalítica de la enzima con su sustrato (Jang y Moon, 2011; Chemat y col., 2011; Aday y col., 2013; Bi y col., 2015; Cao y col., 2018; Iqbal y col., 2019).

Un estudio realizado por Chandrapala y col. (2011) concluyó que las moléculas de PPO se inactivan por agregación, y dicho fenómeno es dependiente de la duración del tratamiento, y que ocurriría como consecuencia de un aumento en la entalpía de desnaturalización.

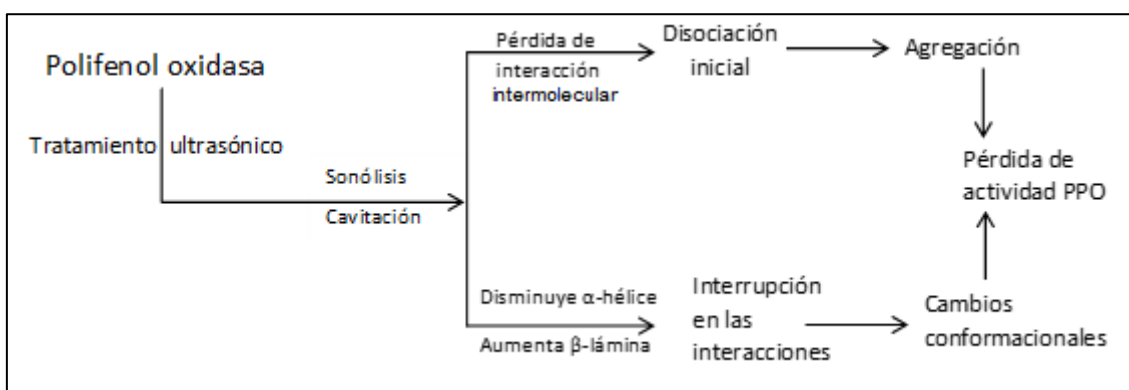


Figura I.11- Mecanismo estimado de inactivación y cambios estructurales en la enzima PPO bajo tecnología ultrasónica (Iqbal y col.,2019).

Microondas

Esta tecnología se encuentra en creciente demanda industrial gracias a la ventaja de permitir un calentamiento rápido. Las microondas (MO) (300–300,000 MHz) son parte del espectro electromagnético y su energía genera calor en alimentos a través de la rotación dipolar y/o polarización iónica (Hebbbar y Rastogi, 2012). Actualmente, a nivel industrial son aplicados en las operaciones de procesamiento que incluyen el templado de carne o pescado y la precocción de tocino o empanadas de carne. Dichas aplicaciones acortan los tiempos de procesamiento, y mejoran las cualidades del producto en comparación con los métodos convencionales (Tola y Ramaswamy, 2012).

El componente del campo eléctrico del equipo emisor de microondas induce la rotación de dipolos en los alimentos y el calor es generado por la fricción de las moléculas (Guo y col., 2017). Marszałek y col. (2015) encontraron que la actividad de la PPO y la POD en puré de frutillas disminuyeron en un 98% y un 100%, respectivamente, después de la aplicación de tratamientos con microondas a 20 kW por 12 s. La enzima, que es de naturaleza proteica, se daña fácilmente mediante el procesamiento por microondas, disminuyendo eficazmente su actividad.

Las MO tienen la ventaja de calentar productos internamente y tienen una mayor profundidad de penetración y velocidades de calentamiento más altas que los tratamientos convencionales, motivo por el que podrían mejorar la retención de los componentes termolábiles en los alimentos (Guo y col., 2017). La energía de MO induce efectos térmicos sobre microorganismos y enzimas similares a los mecanismos de calentamiento convencionales. Sin embargo, esta técnica aún se encuentra en proceso de optimización debido a las complejas interacciones entre los alimentos y las MO.

I.6. Métodos químicos para la prevención del pardeamiento enzimático

Existen diversas sustancias que pueden adicionarse para inhibir el pardeamiento enzimático, tradicionalmente conocidas como antipardeantes. Estas pueden actuar a nivel de la enzima, los sustratos (oxígeno y fenoles) o los productos de la reacción, o bien modificando las condiciones del medio de reacción. En función del mecanismo de inhibición, estos compuestos químicos se clasifican como agentes reductores, agentes quelantes, modificadores de pH e inhibidores enzimáticos (Sikora y Świeca, 2018; Ali y col., 2015; Jang y Moon, 2011).

Para la selección de sustancias químicas que inhiban o retarden el pardeamiento enzimático es necesario tener presente la legislación vigente relacionada con la inocuidad en la introducción de las mismas en alimentos. Los compuestos inhibidores

adicionados a los alimentos no deben ser tóxicos y deberían presentar una alta efectividad a bajas concentraciones; y tampoco deberían modificar considerablemente el sabor y aroma del producto (Sikora y Świeca, 2018).

I.6.1. Inhibidores enzimáticos

Los compuestos que actúan directamente sobre la PPO se pueden clasificar en dos grupos: el primero, que consiste en agentes quelantes (ácidos policarboxílicos, polifosfatos y ácido etilen-diamino-tetraacético) y el segundo se trata de ácidos carboxílicos aromáticos, derivados del ácido benzoico y cinámico como los ácidos *p*-cumárico, ferúlico y *p*-hidroxibenzoico (Parzanese, 2012; Bobo-García y col., 2019).

Los agentes quelantes actúan formando complejos con agentes pro-oxidantes, como los iones de cobre y hierro, a través de un par de electrones no compartidos en sus estructuras moleculares, bloqueando el sitio activo de las enzimas (Marshall, 2000).

El etilen-diamino-tetraacético (EDTA) de calcio disódico y el EDTA disódico han sido aprobados para su uso como aditivos alimentarios por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (*Food and Drug Administration*, FDA) y son ampliamente utilizados (Marshall, 2000). Los complejos que se forman son altamente estables, la máxima eficiencia quelante se produce a los valores de pH más altos (>7) donde existen grupos carboxilo en un estado disociado (Ioannou y Ghoul, 2013).

Los compuestos ácidos carboxílicos aromáticos del segundo grupo se comportan como inhibidores competitivos de la polifenol oxidasa, debido a su similitud estructural con sustratos fenólicos (Parzanese, 2012).

I.6.2. Agentes reductores

Previenen el pardeamiento enzimático por la reducción de o-quinonas a o-difenoles incoloros. Los sulfitos son los agentes reductores más efectivos y de uso frecuente; sin embargo, se ha restringido su aplicación debido a sus efectos adversos en la salud humana (Stohs y Miller 2014). Por este motivo se han introducido en la industria alimentaria sustancias alternativas como el ácido ascórbico (AA), que se ha usado en muchos vegetales (tabla I.1) como antioxidante y es el agente antipardeante más utilizado en la actualidad (Ali y col., 2014; Bobo-García y col., 2019).

Tabla I.1- Aplicación de ácido ascórbico como antipardeante en diferentes vegetales.

Vegetales	Ácido Ascórbico (g/100mL)	Referencias
Banana (Smoothies)	0,20	<i>Wang y col. (2014)</i>
Batata	0,17 - 5	<i>Arogundade y Mu (2012)</i>
Caqui	0,45	<i>Ghidelli y col. (2013)</i>
Durazno	0,20	<i>Li-Qin y col. (2009)</i>
Frijol	0,35	<i>Sikora y Swieca (2018)</i>
Lechuga	0,088	<i>Landi y col. (2012)</i>
Mango (puré)	0,025 - 0,1	<i>Guerrero-Beltrán y col. (2005)</i>
Manzana	0,40	<i>Liu y col. (2016)</i>
	1	<i>Jang y Moon (2011)</i>
	0,5 – 1	<i>Rojas-Graü y col (2008)</i>
	3	<i>Purwanto y Effendi (2016)</i>
	0,03	<i>Özoğlu, y Bayındırlı (2002)</i>
	1	<i>Ali y El-Gizawy (2015)</i>
Papas	0,5 - 2	<i>Rocculi y col (2007)</i>

Su mecanismo de acción implicaría tres procesos: actúa como agente reductor de productos (figura I.12), disminuye el pH y algunos estudios señalan un efecto inhibitorio directo sobre la PPO (Ali y col., 2015). Uno de los inconvenientes o desventaja que presenta su aplicación es su oxidación irreversible a ácido dehidroascórbico durante el proceso de reducción, como la capacidad reductora está relacionada con su

concentración y, dado que el AA aplicado se consume, su efecto antipardeante podría ser temporal. Por lo tanto, el AA suele ser aplicado en combinación con otros conservantes o antioxidantes.

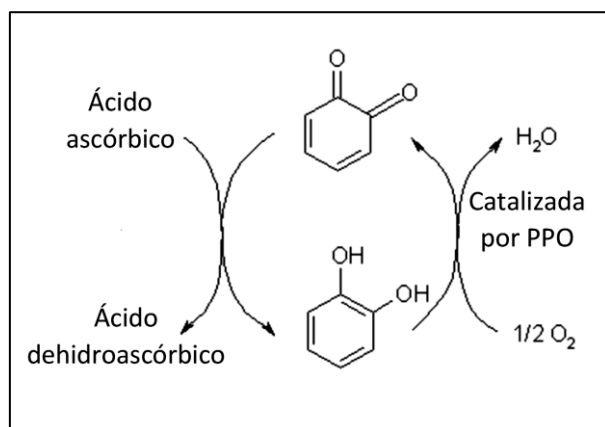


Figura I.12- Mecanismo de acción del ácido ascórbico.

En este grupo de antipardeantes también encontramos a la L-cisteína, usada con menor frecuencia debido a que la concentración necesaria para alcanzar altos niveles de inhibición tiene efectos negativos en el sabor del producto (Morante y col., 2014).

I.6.3. Modificadores del pH

Teniendo en cuenta que el pH óptimo de las enzimas oxidativas ronda el neutro (Ünal, 2007), son inactivadas por debajo de pH 4 (Suttirak y Manurakchinakorn, 2010). Por lo tanto, el papel de los acidificantes es mantener el pH muy por debajo del necesario para evitar su actividad catalítica óptima.

Los ácidos orgánicos como el ácido cítrico (AC) o el ácido ascórbico (AA), incluidos como sustancias GRAS (*Generally Recognized As Safe*), han sido aplicados a una variedad de productos procesados como papa, batata, banana, manzana, etc. (Rocculi y col., 2007; Denoya y col., 2012; Arogundade y Mu, 2012; Huang y col., 2014) para

controlar el pardeamiento enzimático y se usa frecuentemente en combinación con otros agentes.

En síntesis, el estudio del control del pardeamiento enzimático reviste de gran importancia para la industria alimentaria, ya que influye en gran medida en la calidad y apariencia nutricional, reduciendo la aceptabilidad del consumidor y, por lo tanto, produce un impacto económico significativo tanto para los productores de alimentos como para la industria de procesamiento de alimentos. Se estima que más del 50% de la pérdida de frutas y verduras se produce como resultado del pardeamiento enzimático, y en particular, las frutas y vegetales tropicales y subtropicales son las más susceptibles a estas reacciones (Jiang y col., 2016).

Por todo lo anteriormente expuesto el propósito de este trabajo de tesis fue evaluar el efecto de la aplicación de tecnologías emergentes y agentes químicos sobre el pardeamiento enzimático y los parámetros nutricionales en función del tiempo de almacenamiento del puré de bananas.

I.7. Objetivos

Objetivo general:

- Desarrollar métodos alternativos para preservar la calidad del puré de bananas producidas en la Provincia de Formosa (Argentina).

Objetivos específicos:

- Conocer las características físicas y químicas de las bananas (*Musa cavendish*) producidas en Formosa (Argentina).
- Analizar el efecto de la aplicación de tecnologías emergentes UV-C, US y MO sobre el color y la actividad de las enzimas oxidativas PPO y POD del puré de banana.
- Estudiar el resultado de la aplicación de agentes antipardeantes sobre el color y la actividad de las enzimas oxidativas PPO y POD del puré de banana.
- Determinar el efecto de los tratamientos estudiados sobre los compuestos antioxidantes del puré de banana.
- Establecer los cambios de color, compuestos antioxidantes y organolépticos durante el almacenamiento refrigerado del puré de banana tratado por métodos combinados.

II Materiales y Métodos

II.1. Material vegetal

Se trabajó con bananas del género *Musa*, subgrupo *cavendish*, maduras (estadio 5 en la escala Van Loeseck), con piel de coloración uniforme, libres de daños, adquiridas en el mercado local de la ciudad de Formosa, en el período comprendido entre los años 2017 y 2022. Para cada experiencia se utilizaron lotes de 2 kg.

Los frutos fueron caracterizados realizando las mediciones de sus dimensiones con un calibre (marca Sunico, rango 1 mm - 100 mm), el peso mediante una balanza analítica (marca Ohaus +/- 0,1 g) y el color por medio del análisis de imágenes digitales.

II.2. Elaboración del puré

Una vez recibidas las bananas en el laboratorio, fueron lavadas y sanitizadas con NaClO 200 ppm durante 5 min, peladas de forma manual y posteriormente procesadas con una licuadora para obtener el puré (figura II.1). Este puré fue envasado en frascos vidrio con tapa, colocando 40 g por frasco y sometido inmediatamente a los tratamientos correspondientes. Se prepararon 30 frascos para condición de tratamiento. Posteriormente se los almacenó a $4 \pm 0,5$ °C. Los ensayos se realizaron por duplicado.

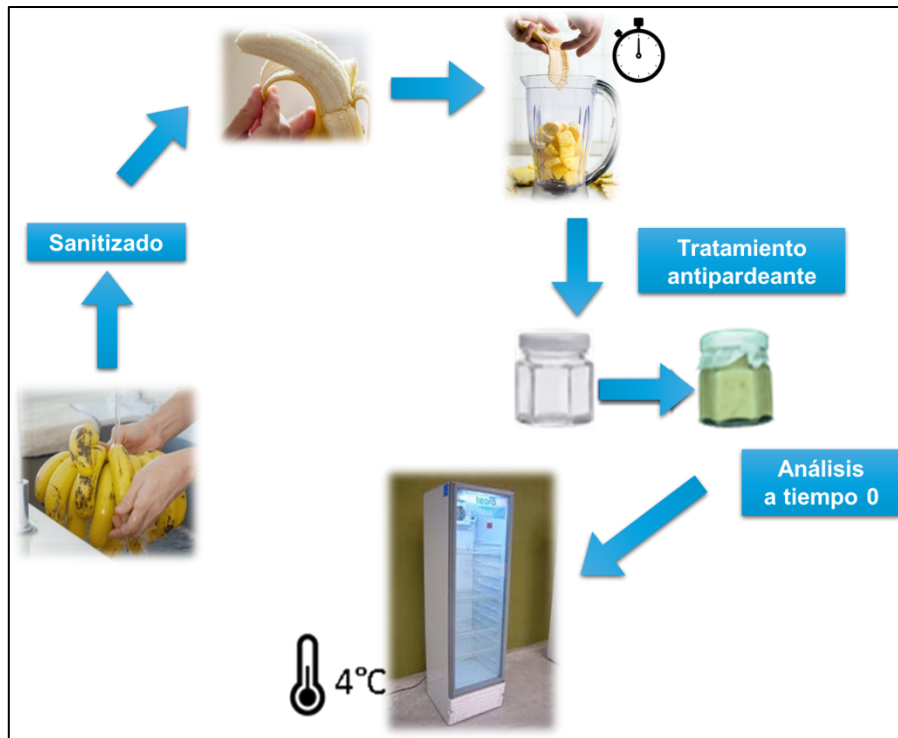


Figura II.1- Esquema del procesamiento

II.3. Tratamientos

El puré de bananas fue sometido a los tratamientos que se detallan a continuación:

II.3.1. Control

Un lote de puré de bananas se fraccionó utilizando los mismos recipientes empleados en los tratamientos: placas de vidrio rectangulares para el tratamiento con UV-C y frascos de vidrio hexagonales para los demás. Los mismos se mantuvieron con la superficie superior expuesta al aire a temperatura ambiente durante el tiempo correspondiente a cada tratamiento, antes de ser almacenadas en refrigeración a $4 \pm 0,5$ °C. Se denominó lote control.

II.3.2. Radiación ultravioleta C (UV-C)

Los tratamientos con luz UV-C se efectuaron en una cámara de radiación UV-C (figura II.2), consistente en una caja de melamina de 1,45 m de largo por 0,40 m de

ancho y 0,45 m de alto, revestida internamente con papel aluminio y con tres lámparas UV-C (TUVG30T8, 36W, marca Philips) en su interior. Las muestras se ubicaron a una distancia de 25 cm de las lámparas.



Figura II.2- Cámara de radiación UV-C

Para la exposición a la radiación UV-C las muestras de puré de bananas fueron colocadas sobre un agitador magnético como soporte, en placas de vidrio rectangulares.

Teniendo en cuenta que el efecto de la radiación UV-C se produce sobre la superficie y tiene poca penetración en materiales opacos, para realizar las experiencias, se diseñaron placas de vidrio de 8 cm x 10 cm x 0,5 cm, que contenían los 40 cm³ para cada frasco de almacenamiento (figura II.3). Estas placas permitieron extender el material superficialmente formando una película delgada de 5 mm y de esta manera asegurar una penetración uniforme y efectiva sobre el puré de bananas. Las muestras control se procesaron de igual manera, pero sin exponerlas a luz UV-C.

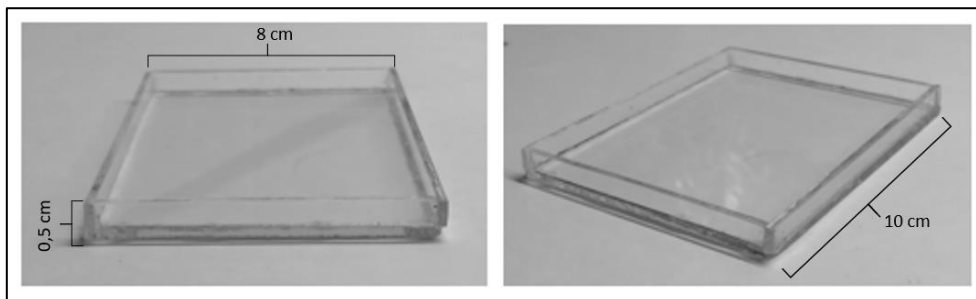


Figura II.3- Placas de vidrio utilizadas para los tratamientos con luz UV-C

Para seleccionar la dosis de UV-C a aplicar, se realizaron ensayos preliminares con puré de bananas sometidos a irradiación a tiempos de 5, 10 y 15 min, correspondiendo a dosis de 1,97, 2,64 y 3,18 KJ.m⁻², respectivamente. Se efectuó una evaluación del color superficial como indicador de eficacia de tratamiento durante un ensayo de almacenamiento acelerado.

Con la información obtenida de los ensayos preliminares y en base a la bibliografía (Gómez y col., 2010; Manzocco y col., 2011; Rivera-Pastrana y col., 2014; Ding y Ling, 2014) se seleccionó un tiempo máximo de exposición de 5 min ya que a tiempos superiores aceleraron la tasa de pardeamiento. La dosis de UV-C seleccionada fue de 1,97 KJ.m⁻², calculada a partir de una curva estándar actinométrica con yoduro de potasio/yodato y se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 352 nm (Rahn, 1997).

El puré tratado se envasó en frascos de vidrio de 40 g y se almacenó a $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 20 días. Cada 5 días se retiraron tres réplicas como muestras para los análisis.

II.3.3. Ultrasonido (US)

Inicialmente se evaluaron las variaciones de pardeamiento en el puré de bananas luego de aplicar el tratamiento en un baño de US marca TESTLAB®, a una frecuencia de 40 kHz y potencia de 50 W, a tiempos de 10, 20 y 30 min (Al Faruq y col., 2018; Aday y col., 2013; Jang y col., 2011; Bi y col., 2015; Nadeem y col., 2018). En base a los resultados observados en estos ensayos iniciales, se estableció como tiempo de aplicación del tratamiento con US de 10 min.

Posteriormente se evaluó el efecto del US durante 10 min en tiempos de almacenamientos prolongados. Para ello, el puré de bananas recientemente preparado fue colocado en frascos de vidrio sin tapa en el baño de US anteriormente descrito, a una frecuencia de 40 kHz y potencia de 50 W durante 10 min. Finalizado el tratamiento

los frascos fueron tapados y almacenados a $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 20 días, retirando 3 muestras cada 5 días para los análisis.

II.3.4. Microondas (MO)

El puré de bananas se colocó en frascos sin tapa y se sometió a diferentes combinaciones de tiempo (10 a 55 s) y potencias (800, 600 y 240 W) en un microondas comercial (DeLonghi MW535). Diversos autores (Hebbar y Rastogi, 2012; Chandrasekaran y col, 2013; Olaniyi 2017; Premakumar y col., 2018; Nagvanshi y col., 2020; Dibanda y col., 2020) sugieren que una temperatura igual o superior a 60°C es efectiva para inhibir la actividad enzimática, especialmente cuando se aplica durante tiempos más cortos, lo que permite obtener un puré con una calidad organoléptica aceptable.

La condición experimental seleccionada para los tratamientos con MO fue la siguiente: potencia 800 W/25 s. Esta combinación de potencia/tiempo aseguró una temperatura superior a 60°C en un corto periodo de tiempo, inactivando las enzimas oxidantes sin alterar las características organolépticas del producto. En la figura II.4 se muestra el aumento de $T = f(t)$ durante los tratamientos con MO a las 3 potencias ensayadas.

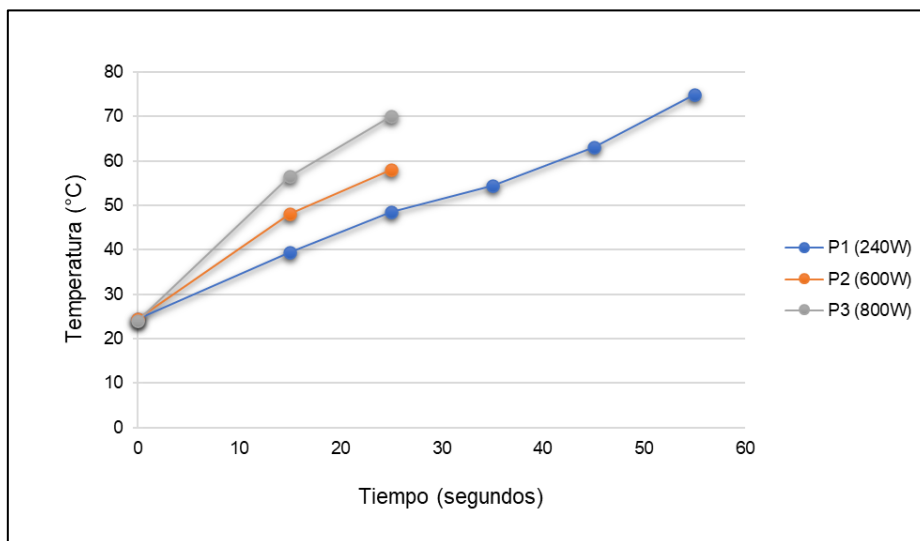


Figura II.4- Evolución de la temperatura = $f(t)$ durante el tratamiento con microondas.

II.3.5. Tratamientos térmicos

Se aplicó un tratamiento térmico de escaldado por inmersión, colocando el puré envasado en frasco de vidrio y sin tapar, en un baño de agua caliente durante 30 s a 70°, 80° y 90°C.

II.3.6. Tratamientos con agentes antipardeantes

Se realizaron ensayos preliminares para seleccionar los agentes químicos capaces de controlar el pardeamiento enzimático (ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido málico, pepsina, papaína, EDTA, L-cisteína) en el puré de bananas, teniendo en cuenta los cambios de color que generan el agregado de cada uno de estos compuestos considerados.

En base a los resultados preliminares fueron seleccionados el ácido ascórbico, el ácido cítrico y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como agentes antipardeantes.

Inmediatamente luego de preparados los purés se mezclaron con soluciones acuosas de agentes antipardeantes en una concentración de 2 % p/p con respecto de la masa de puré.

Cada puré tratado fue envasado y almacenado a $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 20 días. Cada 5 días se extrajeron muestras para análisis por triplicado. El puré control fue adicionado con agua destilada.

Las concentraciones efectivas para estos agentes antipardeantes fueron definidas utilizando un diseño experimental de centroide simplex, de tres componentes, donde para cada uno se ensayó en cuatro niveles: 0 (0%), 1/3 (33%), 1/2 (50%) y 1 (100%) y como variable respuesta el índice de pardeamiento. A partir de este diseño se optimizaron las concentraciones de agente antipardeante más efectivas para disminuir los cambios de color por pardeamiento.

II.4. Determinaciones analíticas

II.4.1. Evaluación del color

En este estudio, las coordenadas del espacio de color $L^*a^*b^*$ fueron obtenidas mediante imágenes digitales procesadas con un software para análisis de imágenes, como se describe más adelante.

En el espacio de color, el eje L^* muestra $L^* = 0$ para el negro o absorción total y $L^* = 100$ para el máximo brillo. El L^* es el brillo o luminosidad y define la claridad del color. La coordenada a^* va de izquierda a derecha en el espacio de color indican para valores negativos el color verde y valores positivos el color rojo. El eje b^* va de arriba hacia abajo y los valores positivos corresponden al color amarillo, en tanto los negativos al azul.

A partir de los valores de L^* , a^* y b^* se calcularon los parámetros chroma y hue. La saturación o chroma (C^*) indica la intensidad o fuerza del tono, se utiliza para determinar el grado de diferencia de un tono en una misma luminosidad. Cuanto mayor sea el valor cromático, mayor será la saturación del color de las muestras percibidas por el ojo humano. El chroma se calculó según la siguiente ecuación:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

El tono o ángulo hue (h^*), considerado el atributo cualitativo del color, es el parámetro según el cual tradicionalmente se perciben los colores como rojos, verdes, amarillos, etc. Se calculó según la siguiente ecuación:

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right)$$

Índice de pardeamiento (IP)

El IP se determina a partir de los parámetros CIELab y se calcula según la siguiente ecuación (Buera y col., 1986):

$$IP = \frac{100 (x-0,31)}{0,172}$$

$$\text{donde } x = \frac{a^* + 1,75L^*}{5,64L^* + a^* - 3,01b^*}$$

Obtención de imágenes digitales

Para la adquisición de imágenes digitales se desarrolló un sistema de visión computarizada como se observa en la figura II.5 (León y col., 2006; Rocculi y col., 2007; Olivas y col., 2007) que consiste en:

- *Caja negra*: las dimensiones de la caja donde se colocaron las muestras fueron de 70 cm de largo x 40 cm de ancho x 45 cm de altura. Teniendo en cuenta que la

iluminación ambiental es crítica para que las imágenes sean reproducibles, se utilizó una caja de madera cuyas paredes internas se pintaron de negro mate para absorber la luz y los reflejos externos, en esta se ubicó el sistema de adquisición de imágenes, se cerró con tapa para mantener las condiciones de iluminación sin variaciones.

- *Sistema de iluminación*: compuesto por dos lámparas fluorescentes (60 cm de largo) marca Philips F17T8/TL865 Plus cuyas características de fábrica son $R_a=82\%$, temperatura del color 6500K (D65, fuente de luz estándar comúnmente utilizada en investigación alimentaria), lúmenes iniciales= 1300 Lm y 17 watts, ubicadas en la parte superior interna, 30 cm por encima de la muestra de la caja negra con un ángulo de 45° .

- *Cámara digital* marca Panasonic modelo Lumix DMC-F3 de 12 Megapíxeles. Las condiciones de captura de la cámara fueron: Tiempo de exposición $+1/3$, ajuste de blanco automático (AWB), resolución de las imágenes 3072x2304 L, ISO 100, flash desactivado, temporizador para adquisición de la imagen de 10 s y altura de la muestra al foco de 20 cm.



Figura II.5- Sistema de obtención de imagen

Las imágenes digitales obtenidas fueron almacenadas en formato JPEG para su posterior análisis (estas imágenes se encuentran en espacio de color RGB). De las imágenes adquiridas de la muestra se realizó un proceso de segmentación y el cambio al sistema CIELab (figura II.6) utilizando el software de versión libre ImageJ (Schneider y col., 2012).

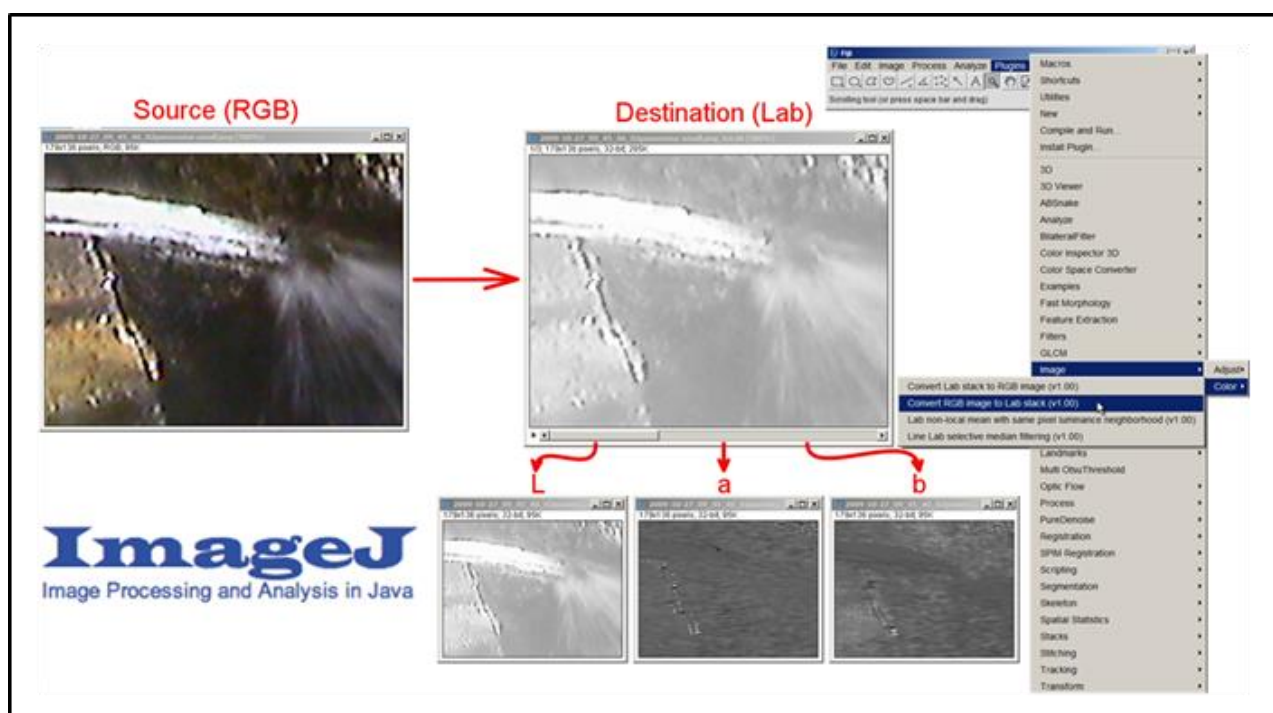


Figura II.6- Cálculo de los parámetros L^* , a^* y b^* con el software Image Processing and Analysis in Java (ImageJ) (Ferreira y Rasband, 2012).

II.4.2. Humedad y materia seca

La humedad se determinó por secado en estufa a 105°C según el método 925.40 de la AOAC (2005), hasta alcanzar valores de pesada constante. Los resultados se expresaron en g/100g de pulpa fresca.

Con la diferencia entre la humedad contenida y la masa total de la muestra se calculó además el contenido de materia seca.

II.4.3. Cenizas

La determinación de cenizas se realizó por incineración en mufla ORL (Argentina) a 550°C siguiendo la técnica 923.03 (AOAC, 2005). Los resultados se expresan en porcentaje.

II.4.4. Sólidos solubles

Se realizó la medida de índice de refracción del puré a temperatura ambiente según la técnica 932.12 (AOAC, 2005), empleando un refractómetro de mano FG-113 Arcano® (China). El resultado fue expresado en °Brix.

II.4.5. Acidez titulable

Se pesaron 5 g de la pulpa y homogeneizaron con 50 mL de agua destilada, previamente llevada a ebullición durante 5 min y enfriada hasta alcanzar temperatura ambiente. Se realizó la titulación potenciométrica según el método 942.15 (AOAC, 2005) utilizando un pH-metro (Checker®, Rumania) con NaOH 0,1 N hasta alcanzar pH = 8,1. A partir del volumen en NaOH utilizados se calculó la acidez expresada en mg de ácido málico por 100 g de pulpa fresca (mg Ácido málico/100g).

II.4.6. Ácido Ascórbico

Se preparó una mezcla con 5 g pulpa y 10 mL de agua destilada, luego se adicionaron 10 mL de la solución que contenía ácido metafosfórico 0,125 M y ácido acético 1,33 M. Se filtró con papel de filtro y se tomó una alícuota de 2 mL del filtrado. Luego del agregado de 5 mL de solución de ácido metafosfórico-acético se tituló con 2,6-diclorofenolindofenol (0,05%) hasta punto final rosa (AOAC, 2005). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Se preparó una curva de calibración en un rango de 0,2 a 1 mg/mL con ácido ascórbico como patrón, para luego calcular el contenido de vitamina C expresado como mg de ácido ascórbico por 100 g de puré (mgAA/100g).

II.4.7. Ácidos orgánicos

La concentración de ácidos orgánicos se determinó por Cromatografía líquida de alta resolución o HPLC. Para ello se preparó un extracto con 5 gramos de puré y 30 mL de buffer KH_2PO_4 de 0,01 M (pH = 2,60), esta misma solución fue luego utilizada como fase móvil. La mezcla se agitó 30 min en baño de hielo y luego se filtró con papel. Antes de cada inyección los extractos se filtraron con una membrana de nylon de 0,45 μm . Se trabajó con un sistema de HPLC (Shimadzu LC-10 A, Tokyo, Japón) con fase móvil (KH_2PO_4 de 0,01 M pH = 2,60) con flujo de 0,5 mL/min, columna Thermo Scientific ODS HYPERSIL 250 x 4.6 mm con tamaño de partícula de 5 μm (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) y detector de arreglo de diodos UV-visible, fijado a 210 nm para ácido tartárico, oxálico y cítrico y a 254 nm para ácido ascórbico. Los resultados se expresaron en mg/100 g de puré, calculados en base a las soluciones de los patrones de cada ácido preparados en un rango de 20 a 60 mg/100 mL.

II.4.8. Fenoles totales

Se preparó un extracto metanólico mezclando 5 g de puré de bananas con 30 mL de metanol 80 % (Azmir y col., 2013). Se agitó durante 30 min en un baño de hielo y se centrifugó a 15000 rpm por 15 min a 4 °C. Se separó el sobrenadante y se lo utilizó como extracto para la determinación de compuestos fenólicos y la determinación de capacidad antioxidante.

El contenido de fenoles totales se determinó espectrofotométricamente con el reactivo de Folin Ciocalteu. En placas de 96 pocillos de fondo plano se colocaron 50 μL

de los extractos, se agregaron 50 μL de agua destilada y 100 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu 0,2 N (Biopack®). Se dejó en reposo por 5 min y luego se agregó 100 μL de carbonato de sodio (7,5% p/v) y se dejó reposar durante 60 min al resguardo de la luz. La absorbancia se midió a 765 nm utilizando un lector de placas espectrofotométrico (BioTek Epoch2 UV-Vis, EEUU). Se preparó una curva patrón de ácido gálico en un rango de 0,2 a 1 mg/mL, empleando como blanco agua destilada. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de puré (mgEAG/100g).

II.4.9. Azúcares Totales

La determinación de los azúcares totales se realizó siguiendo la metodología propuesta por Laurentin y Edwards (2003). Se preparó un extracto acuoso mezclando 5 g de puré con 100 mL de agua destilada. Se mezclaron y se dejaron en reposo por 5 min. Se filtró con papel de filtro y se tomaron 2 mL, al que se adicionaron 1,3 mL de HClO_4 al 52% (v/v). Se dejó reaccionar durante 20 min y pasado este tiempo se llevó a 10 mL con agua destilada y se centrifugó a 3200 rpm durante 20 minutos. Se mezclaron 0,5 mL de sobrenadante diluido y 1 mL de reactivo de antrona 0,2% en H_2SO_4 . Los tubos se incubaron a 90 °C en baño termostatzado durante 5 min. Para detener la reacción se usó un enfriamiento rápido por medio de un baño de agua con hielo. Se dejó reposar 15 min a temperatura ambiente y luego se determinó la absorbancia a 630 nm utilizando un espectrofotómetro (BioTek Epoch2 UV-Vis, EEUU). Como estándar de referencia se realizó una curva con glucosa con concentraciones de 20-100 mg/mL. Los resultados se expresaron en mg de glucosa por g de puré (mg/g).

II.4.10. Azúcares Reductores

Para la evaluación de azúcares reductores se adaptó la técnica propuesta por Miller (1959) utilizando 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Se realizó un extracto acuoso con 5 g de la pulpa y 100 mL de agua destilada en agitación por 30 min y luego se filtró. Se mezclaron 0,5 mL de extracto con 0,5 mL de reactivo de DNS (ácido 3,5- dinitrosalicílico) 1 % p/v. Se incubó en baño termostatzado a 80 °C durante 10 min, luego los tubos se colocaron en baño de hielo durante 15 minutos. Se adicionaron 2 mL de agua destilada a cada tubo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 min. Las absorbancias de las muestras se determinaron a 530 nm en espectrofotómetro (BioTek Epoch2 UV-Vis, EEUU). El cálculo de la concentración de azúcares reductores se realizó empleando una curva estándar de referencia de glucosa con concentraciones de 0,2 – 1,0 mg/mL.

II.4.11. Capacidad antioxidante

Para este estudio, se emplearon dos tipos de sistemas de evaluación antioxidante: 1-capacidad anti-radicalaria, que mide la capacidad de los antioxidantes para extinguir un radical sintético estable $ABTS^{\bullet+}$ (Pertuzatti y col., 2014) y radical libre DPPH $^{\bullet}$ (Brand-Williams y col., 1995); y 2- el poder reductor férrico o FRAP (por sus siglas en inglés Ferric Reducing Antioxidant Power) desarrollado por Oyaizu (1986), que se basa en la capacidad que posee la muestra o el extracto para reducir el ión Fe^{+3} a Fe^{+2} .

Para la determinación de la capacidad antioxidante se obtuvieron extractos metanólicos de la pulpa de banana de la forma detallada en el apartado II.4.8. para el análisis de fenoles totales.

Método del radical catiónico $ABTS^{\bullet+}$

Este método está basado en la capacidad de los extractos para inactivar el radical catiónico 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico ($ABTS^{\bullet+}$), fue adaptado de Re y

col. (1999). Se preparó una solución 7mM de ABTS•+ (Sigma Aldrich) en agua ultrapura, a la que se le adicionó K₂S₂O₈ 2,45 mM (relación 1:0,5), esta mezcla se dejó reaccionar durante 12 horas en oscuridad. La solución así preparada fue fraccionada y conservada a -20 °C hasta el momento de uso.

Se mezclaron 100 µL de extracto con 2900 µL de la solución del ABTS•+ (con absorbancia 0,700 ± 0,020 ajustada previamente a 734 nm). La mezcla se dejó reaccionar por 10 min al resguardo de la luz y a temperatura ambiente. Pasado el tiempo se determinó la absorbancia final a 734 nm de la mezcla de reacción.

Para el cálculo de la capacidad antioxidante de la muestra, se empleó un antioxidante sintético de referencia conocido como Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2- ácido carboxílico). Se realizó una curva estándar en un rango de 0 a 0,5 mM, midiéndose la absorbancia de este rango a 734 nm. Los resultados se expresaron en términos de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC).

Método del Radical DPPH•

La determinación del poder antioxidante de los extractos, estimada a través de su capacidad para inactivar radicales libres, se llevó a cabo adaptando el método descrito por Brand- Williams y col. (1995).

Se preparó una solución 0,07 mM de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) (Sigma-Aldrich) en metanol puro. A 3 mL del reactivo recientemente preparado se añadió 200 µl del extracto diluido convenientemente. Se dejó reposar por 60 min en oscuridad a temperatura ambiente, finalmente se determinó la absorbancia a 517nm.

Se calculó el porcentaje de inactivación (%I):

$$\%I = \frac{A_0 - A_{60}}{A_0}$$

donde A_0 es la absorbancia de un blanco de reacción preparado con 200 μ L de metanol y A_{60} es la lectura de absorbancia de la muestra luego de 60 min. Se realizó una curva de calibración utilizando concentraciones de 0 a 50 μ g/mL de ácido ascórbico como antioxidante de referencia. Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente de vitamina C por g de pulpa (VCEAC/g).

Método del Poder Reductor Férrico

Se determinó el poder reductor del hierro según el método de Oyaizu (Lim y col., 2007). A 1 mL del extracto se adicionaron 2,5 mL de buffer K_2HPO_4/KH_2PO_4 (pH=6,6) y 2,5 mL de $K_3Fe(CN)_6$ 0,03 M. La mezcla se incubó a 50 °C por 20 min y luego se agregaron 2,5 mL de ácido tricloroacético 0,61 M. Se centrifugó a 10000 rpm por 10 min, y 2,5 mL del sobrenadante se diluyeron con 2,5 mL de agua destilada. Finalmente se adicionaron 0,5 mL de $FeCl_3$ 0,06 M y se dejó reposar por 10 min. La absorbancia se determinó a 700 nm y los resultados se expresaron en mg ácido ascórbico Equivalente/100 g de pulpa.

II.4.12. Actividad enzimática

Para la determinación de las actividades enzimáticas se pesaron 5 g de puré y se mezclaron con 30 mL de buffer K_2HPO_4/KH_2PO_4 (pH=6,5 para PPO y pH=5,0 para POD). Se agitó en baño de hielo durante 30 min, la mezcla se centrifugó a 15000 rpm por 15 minutos a 4 °C y el sobrenadante se denominó extracto crudo.

La actividad de la enzima PPO fue determinada midiendo el incremento de la absorbancia a 420 nm al hacer reaccionar 1 mL del extracto crudo con 1 mL de catecol 40 mM a 25 °C. Se realizaron lecturas cada 20 segundos durante 5 min a 420 nm. Una unidad de actividad enzimática en las condiciones ensayadas se definió como la

variación en 0.01 de absorbancia por minuto y respecto de la concentración de proteína expresados en mg ($\Delta U_{420}/\text{min}/\text{mg}$ proteína)

La determinación de la actividad de la enzima POD se realizó mezclando 500 μL del extracto enzimático crudo con 1 mL de *p*-fenildiamina 0,092 M y 1 mL de peróxido de hidrógeno 0,61 M. La mezcla de reacción se incubó a 25°C y se realizaron lecturas cada 20 segundos durante 5 min a 470 nm. Una unidad de actividad enzimática en las condiciones ensayadas se definió como la variación de absorbancia por minuto y respecto de la concentración de proteína expresados en mg ($\Delta U_{470}/\text{min}/\text{mg}$ proteína).

Con el objetivo de comparar el efecto de los diferentes tratamientos en las actividades de las enzimas estudiadas, se calculó la actividad enzimática relativa expresada como el cociente entre el valor a tiempo *i* de las muestras tratadas (AE_i) y el valor inicial (tiempo 0) de la muestra control (AE_0).

Cuantificación de proteínas

El contenido de proteína se cuantificó en los extractos enzimáticos siguiendo el método colorimétrico propuesto por Bradford (1976) modificado. Se colocó en placas de 96 pocillos, 20 μL de muestra y se agregaron 200 μL del reactivo de Bradford preparado con el Azul brillante de Coomassie G-250 0,2 % p/v. Se agitó suavemente y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Luego se midió la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro. La concentración de proteínas solubles se calculó en base a la curva de calibración con el estándar de proteína albúmina bovina en concentraciones de 25 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

II.5. Análisis microbiológico

El recuento de microorganismos mesófilos totales se realizó siguiendo la norma ISO 4833, como medio de cultivo se utilizó el agar para recuento (RPA Britania), y para el recuento de levaduras y mohos se siguió con la norma ISO 6611 usando el medio de cultivo agar Hongo y Levaduras (HyL de Britania).

La muestra se preparó diluyendo 5 g de las muestras de puré y 45 mL de solución salina estéril (cloruro de sodio 0,85%). Se sembró 1 mL de esta dilución en placas de Petri estériles y se repitió la operación con diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}). Sobre las alícuotas se vertieron 15 mL de agar ($45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), se mezcló e incubó a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 72 h para mesófilos totales y a 25°C por 5 a 7 días para hongos y levaduras. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

El número de microorganismos (N) por gramo se calculó con la expresión:

$$N = \frac{\sum C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d}$$

donde:

$\sum C$ = Es la suma de las colonias contadas en las placas seleccionadas;

$n1$ = Es el número de placas seleccionadas de la primera dilución que tienen entre 10 y 150 colonias;

$n2$ = Es el número de placas seleccionadas de la segunda dilución que tienen entre 10 y 150 colonias.

d = es el factor dilución correspondiente a la primera dilución.

Los resultados se expresaron como logaritmo de unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (log UFC/g).

II.6. Análisis sensorial

La evaluación fue realizada por un panel semi-entrenado formado por 8 integrantes. Para la conformación del panel, los evaluadores fueron seleccionados según su afinidad con el producto y participaron previamente en sesiones de entrenamiento, en las que se definieron los descriptores sensoriales y acordaron los criterios y puntajes a aplicar. Se llevaron a cabo entrenamientos prácticos utilizando muestras representativas de cada descriptor sensorial (figura II.7). Por ejemplo, para el atributo "apariencia global" se trabajó con descriptores como cremosidad, homogeneidad y brillo. Además, se alcanzó un consenso sobre los criterios para asignar puntajes altos.



Figura II.7- Imágenes durante las sesiones de evaluación sensorial

Los evaluadores recibieron un puré de bananas por cada tratamiento, debidamente codificados y se evaluaron la apariencia global y el grado de pardeamiento. Estos atributos fueron cuantificados por observación visual utilizando una escala semiestructurada. Para el descriptor color se utilizó luz blanca y cada muestra fue servida en vasos de plásticos blancos.

Para las pruebas preliminares fue utilizada una escala con puntajes entre 0 y 5, y para la prueba final se aplicó una escala de calificación de 0 a 9 para una evaluación más detallada para detectar con mayor precisión las diferencias.

II.7. Análisis estadístico

Cada una de las experiencias fue realizada en más de 2 oportunidades. Se tomaron 3 muestras para cada tiempo de ensayo efectuando cada determinación analítica por triplicado. Los resultados fueron analizados por medio de un ANAVA, determinándose las diferencias significativas por medio de la prueba de Tukey con $\alpha=0,05$, utilizando el software estadístico InfoStat® (Di Rienzo y col., 2012).

Para el diseño experimental, el análisis de datos y la construcción de modelos en la selección de la concentración para los agentes químicos mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR) se empleó el software Desing-Expert® Version 7.0 de Stat-Ease, Inc. (Minneapolis, MN, EE. UU.).

III Resultados y Discusión

III.1. Caracterización del material vegetal

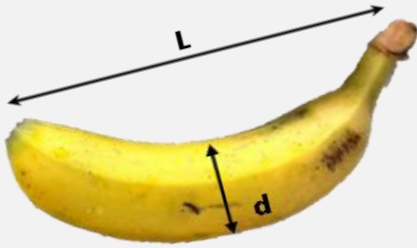
III.1.1. Morfometría

Con el objetivo de caracterizar los frutos de bananas en estadio 5 producidas en la Provincia de Formosa entre los años 2017 y 2022, se hicieron mediciones de sus dimensiones. En la tabla III.1 se pueden observar los valores promedios de las mediciones morfométricas así como también el peso del fruto entero, de la pulpa, de la cáscara y la relación porcentual entre ellos. En la tabla además se presenta una figura donde se indica en qué manera se realizó la medición. La longitud se midió externamente de extremo a extremo debido a la curvatura que presentan las bananas. El diámetro de cada fruta se calculó con la fórmula del perímetro de un círculo, medido con cinta métrica en la parte media del fruto.

Se analizaron un total de 120 bananas por lote y los resultados arrojaron un valor promedio de $15,83 \pm 1,15$ cm de longitud y $3,43 \pm 0,97$ cm de calibre o diámetro. En comparación, según estándares de exportación de Ecuador las dimensiones de las bananas que se importan de ese país son de 20 a 22 cm y los calibres van de 3,9 a 4,6 cm (Balcázar, 2014).

Velásquez-Herrera y col. (2016) estudiaron diferentes variedades de bananas para su potencial industrialización, donde los parámetros físicos como el peso de la pulpa y su longitud, son mucho más relevantes que los nutricionales desde el punto de vista del rendimiento, y reportaron que la más destacada en cuanto a su morfología fue la de la variedad “Giant Cavendish” con una longitud de $26,08 \pm 1,74$ cm y $154,96 \pm 14,48$ g de peso de la pulpa, pero con un porcentaje de cáscara de $44,80 \pm 1,80$ %, mayor al encontrado en las bananas formoseñas que fue de $36,29 \pm 1,93$ %.

Tabla III.1- Morfometría de las bananas formoseñas

<div style="text-align: center;">  <p><i>Musa cavendish</i> Banana</p> </div>	
Características morfométricas	
Longitud (cm)	15,83 ± 1,15
Calibre (mm)	34,25 ± 0,97
Peso del fruto (g)	111,28 ± 7,61
Peso de la cáscara (g)	40,43 ± 4,05
Peso de la pulpa (g)	70,00 ± 3,86
Relación porcentual	36,29 ± 1,93

En el mercado interno, las bananas de producción local deben competir con los frutos importados de Brasil, Ecuador y Colombia (Molina, 2016), los cuales tienen claras diferencias en cuanto al tamaño. Sin embargo, estos parámetros muchas veces no guardan relación directa con la composición química, como lo señalaron Forster y col. (2002), quienes compararon bananas de Tenerife (España) con las ecuatorianas concluyendo que, aunque las primeras eran significativamente de un tamaño mucho menor, presentaban mayor contenido de proteínas, cenizas, ácido ascórbico y azúcares totales.

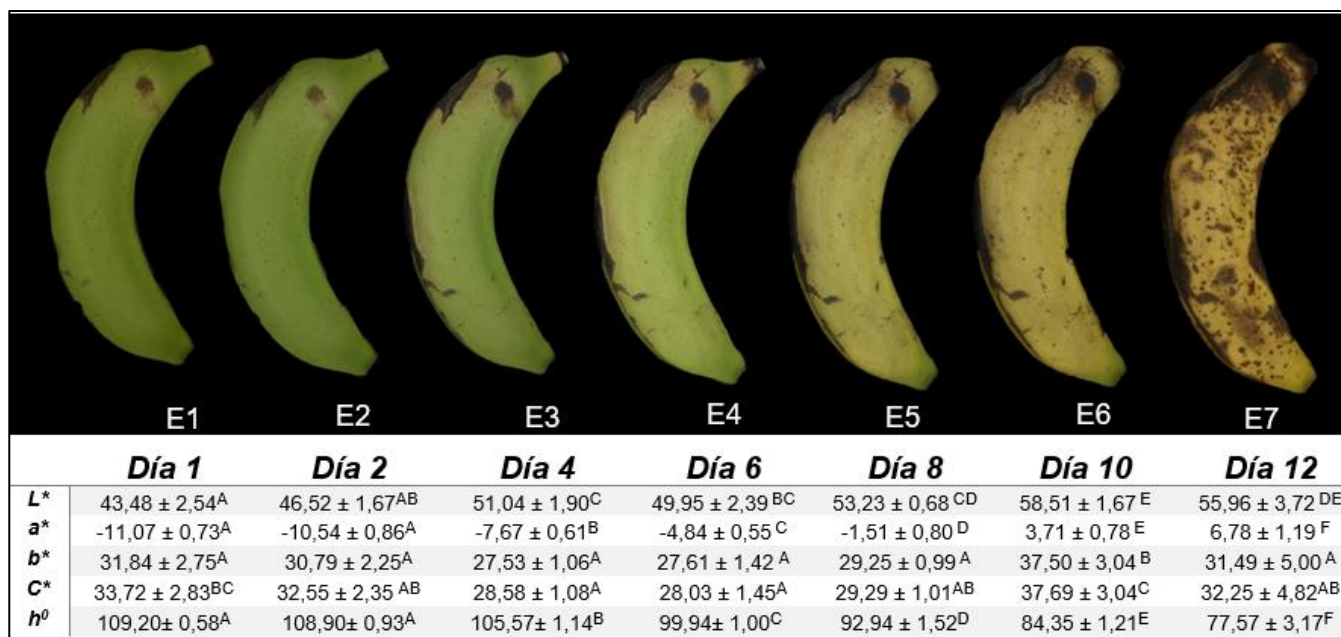
Es importante por ello, contar además con estudios de composición química de estas frutas producidas localmente y comparar dichos valores frente a los frutos importación. De esta manera se pueden establecer diferencias en los atributos que aporten valor agregado a la producción local. Por otra parte, se pueden estimar los usos potenciales y promover su consumo nacional y su comercialización (FAO, 2019).

III.1.2. Determinación del estadio de maduración

Durante el proceso de maduración de los frutos, ocurren una serie de cambios en sus características organolépticas y composicionales, siendo el color el primer atributo que impacta en el consumidor. El estadio de maduración es un factor clave en la calidad del producto final.

Se efectuaron mediciones de las coordenadas $L^*a^*b^*$ utilizando imágenes digitales. El procesamiento de imágenes es un campo científico innovador donde la imagen adquirida se transforma en información útil, en este caso para los productores al momento de decidir el tiempo adecuado de la cosecha (Mendoza y col., 2006; Mustafa y col., 2008; Prabha y Kumar, 2015; Escalante Minakata y col., 2017; Nagvanshi y col., 2020).

Los resultados se presentan en la figura III.1, donde cada imagen corresponde a un estado madurativo determinado, E1 hace referencia a la fruta inmadura con 24 h de postcosecha y E7 al estadio final de maduración natural. En la misma se observan los cambios de color que se producen, variando desde el verde oscuro en E1 al amarillo en estadios posteriores. Según Salvador y col. (2007), la coloración en tono amarillo se debe a la aparición de xantófila y caroteno, seguido de oscurecimientos, cuando la banana está sobremadura. Prabha y Kumar (2015) encontraron que la intensidad media del color y las características del área eran más significativas entre las diferentes etapas de madurez que otras características del fruto como la longitud o el diámetro.



A,B,C,D,E,F Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p > 0,05$) entre columnas.

Figura III.1- Evolución del color de la cáscara durante la maduración natural de bananas *Musa cavendish*. Se expresan los valores medios ± DE.

Durante el proceso de maduración, los valores iniciales de L^* fueron de $43,48 \pm 2,54$ en E1 alcanzando el valor máximo a los 10 días con $58,51 \pm 1,34$ en E6 y sin cambios significativos al día 12 (E7). Al igual que los resultados de García y col. (2006), la luminosidad medida presenta una leve variación, incrementándose al avanzar la maduración. Esta variación se debe al aumento del color amarillo en la cáscara incrementando su luminosidad y mostrando una ligera tendencia a disminuir en el último estadio con la aparición de manchas pardas debidas al deterioro de la banana.

El parámetro a^* , cuyos valores negativos indican color verde y los valores positivos el rojo, aumenta significativamente durante la maduración. Para el estadio E1, tiene valores negativos de $-11,07 \pm 0,73$, alcanzando valores positivos hacia el final, $6,78 \pm 1,19$ para el E7. El cambio de signo en los valores del parámetro a^* se produjo durante la transición de estadios E5 a E6, debido a que en E6 existe un predominio del color amarillo, mientras que el color verde resultó casi imperceptible. Similares resultados fueron reportados por Gomes y col. (2014), aunque el cambio de signo en el parámetro

a* fue más temprano, ocurriendo en la transición de los estadios 4 a 5 de la escala Von Loesecke.

El parámetro b* cuyos valores positivos indican el color amarillo y el negativo los azules, presentó un valor inicial de $31,84 \pm 2,75$ en E1 y no tuvo diferencias estadísticamente significativas en el resto de los estadios considerados, a excepción del E6 en que tuvo un aumento significativo debido al predominio el color amarillo registrándose un valor de $37,50 \pm 3,04$. En comparación, Cho y col. (2016) identificaron cuatro etapas de maduración en bananas (*Musa spp.*) con base en las diferencias que hallaron para los valores del parámetro a*, el cual mostró cambio de signo del negativo al positivo durante la transición de la etapa 2 a la 3 hacia el sexto día de almacenamiento. Por otra parte, no reportaron cambios significativos para los parámetros L* y b*. Mendoza y Aguilera (2004) sugirieron que los cambios en el parámetro a* son consecuencia de la descomposición de la clorofila en la cáscara durante la maduración y además hallaron datos que mostraron que los cambios de color sucesivos y en L*, a* y b* ocurrieron en los primeros y en los últimos 2 días del periodo total de 11 días de almacenamiento. Esto indicaría que los estados madurativos E5 y E6 correspondientes a los días 6 y 8 de la maduración natural, serían adecuados para el procesamiento dado que, durante esas etapas previas a la senescencia, si bien hay una reducción del metabolismo primario la concentración de nutrientes es elevada (Lobo y Fernández Rojas, 2020).

Los valores más bajos de C*, con diferencias significativas, se midieron a los 6 días de la maduración con $28,03 \pm 1,45$ y por lo tanto tuvo un color de cáscara amarillo más claro. En otro estudio como Kheng y col. (2012) midieron el C* en cáscara de bananas de la variedad "Rastali" en los 5 días posteriores a la cosecha y hallaron valores más elevados en el quinto día con $C^* = 43,24$, lo que supone un color más vívido.

Los valores del tono (h°) medidos en la cáscara disminuyeron significativamente en cada estadio de maduración, coincidiendo con el cambio de color de la cáscara de verde a amarillo. Durante la maduración, el cambio de color de la cáscara de verde maduro a amarillo se debe a la acumulación de carotenoides y a la degradación de la clorofila en el tilacoide (Kader, 2007). En el primer día poscosecha se calculó un valor de $109,20 \pm 0,58^\circ$ que luego disminuyó significativamente ($p = < 0,0001$) a $84,35 \pm 1,21^\circ$ en el día 10 de la maduración. Similares resultados fueron reportados por Ding y col. (2007) en bananas "Williams" donde en la primera etapa de maduración el valor de h° hallado fue de $120,31^\circ$, finalizando con $92,48^\circ$ en la etapa 6. Según Kheng y col. (2012) la cáscara de la banana que es cosechada en una etapa más avanzada tiene un color amarillo más intenso a medida que avanza la maduración, apoyándose en que en las bananas de variedad "Rastali" que estudiaron, al día 5 posterior a la cosecha alcanzaron un valor de $h^\circ = 95,26^\circ$, menor a lo hallado en el presente trabajo con las bananas de Formosa, que al día 6 poscosecha presentaron un valor de $h^\circ = 99,94 \pm 1,00^\circ$.

Debido a que el pardeamiento de las cáscaras de banana coincide con el desarrollo de puntos negros, la inspección colorimétrica en el espacio CIELab no es suficiente para describir la totalidad de los cambios de color, dada la heterogeneidad del color de la superficie total de las cáscaras (Cho y col., 2016), por lo que debe complementarse con el análisis de porcentaje del Área Lesionada del Fruto (% ALF), usando una escala esquemática diagramática propuesta por Moraes y col. (2008) para este propósito.

En este ensayo de la imagen obtenida digitalmente se eliminó el fondo y fue convertida del sistema RGB en una imagen binaria (Prabha y Kumar, 2015), donde el 0 (blanco) corresponde a la región de la banana sin manchas ni daños y 1 (negro) corresponde a la región de los daños o lesiones del fruto (figura XII.2). Todas las imágenes de la banana de los diferentes estadios de madurez fueron convertidas usando el mismo procedimiento con el software ImageJ.

Los resultados del presente trabajo muestran que el área ocupada por las manchas provenientes de lesiones (Área Lesionada del Fruto o ALF) varió desde un 0,5 % en E1 a 32 % en E7. En la figura III.2 se observa el % ALF medido según los estados madurativos, en base a estos resultados y según el área calculada de las manchas presentes en E5 y E6, el porcentaje fue de 8 y 16 %, respectivamente. Estos valores relacionados con la apariencia del fruto, se encuentran dentro de los límites aceptables definidos por Fernandes y Bonaldo (2011) para la calidad de bananas poscosecha.

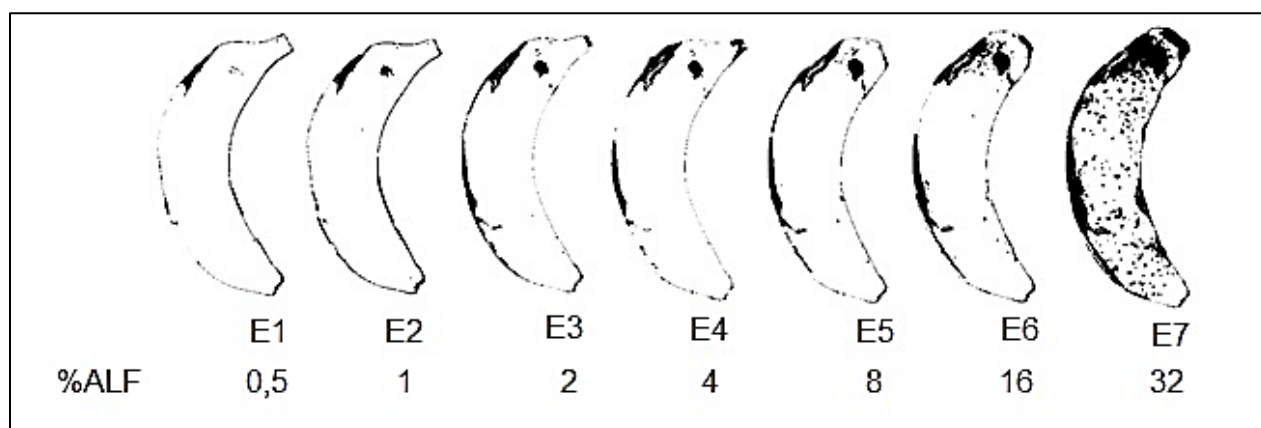


Figura III.2- Variación del porcentaje de Área Lesionada del Fruto (%ALF) durante la maduración natural.

III.1.3. Composición y propiedades de la banana

Las variaciones en la cantidad y calidad de los componentes químicos presentes en los frutos se han atribuido a diversos factores, como la genética, las prácticas de cultivo, la composición del suelo, el estado de madurez de la planta y las técnicas poscosecha (Faller y Fialho, 2010). Por tanto, es imprescindible realizar este tipo de determinaciones químicas en la pulpa para complementar la caracterización de los frutos que proporcionen datos esenciales sobre las bananas producidas en Formosa. Además, la composición química es un factor importante que puede influir en la estabilidad y la calidad del producto. Los resultados de las determinaciones químicas, expresadas en base húmeda (bh), se exponen en la tabla III.2.

Tabla III.2- Caracterización de la pulpa fresca de bananas formoseñas

Año	pH	Sólidos Solubles (°Brix)	Acidez titulable (% Ácido málico bh)	Fenoles totales (mgEAG/100g bh)	Azúcares reductores (mg glucosa/g bh)	ABTS•+ (μmolTrolox/g)	DPPH• (mgAA/100g)
2017	5,04 ±0,05	24,50 ±0,71	0,47 ±0,10	475,71 ±22,21	196,89 ±45,28	859,26 ±25,73	6,86 ±1,39
2018	5,09 ±0,07	21,50 ±0,71	0,07 ±0,02	506,48 ±53,95	179,98 ±5,29	971,55 ±194,26	7,84 ±5,54
2019	5,27 ±0,13	21,33 ±1,15	0,37 ±0,03	543,12 ±95,53	159,29 ±31,35	1030,93 ±193,17	11,76 ±3,93
2022	5,06 ±0,06	22,00 ±1,41	0,44 ±0,02	659,36 ±11,78	146,04 ±14,06	1249,75 ±141,35	7,84 ±0,01

El pH puede fluctuar según la variedad, las condiciones agroecológicas en las que se desarrolle el fruto y las condiciones de almacenamiento (Piña y col., 2006). En bananas se encuentra alrededor de 5 y tiene un efecto importante sobre los pigmentos responsables del color en las frutas. Además, el pH tiene influencia en algunas de las propiedades de las proteínas como la desnaturalización, la gelificación, reacción de Maillard, actividad enzimática, etc. (Andrés-Bello y col., 2013).

El pH medido en las bananas formoseñas arrojó un valor promedio de $5,13 \pm 0,13$. Similares resultados en bananas producidas en Sudáfrica y la India fueron reportados por Anyasi y col. (2015) y Pareek (2016) respectivamente. Además de su implicancia en el sabor, el valor del pH toma relevancia cuando la fruta se la destina al procesamiento industrial dada su relación con los costos de transformación del producto, ya que puede contribuir a la eficiencia del proceso o dificultarlo.

En las bananas la acidez está dada por la concentración de ácidos orgánicos como el cítrico, el málico y el oxálico, entre otros. Los ácidos orgánicos son sustratos utilizados durante procesos metabólicos como la respiración celular, por lo que la maduración supone un descenso en la acidez, por ello suele utilizarse como indicador del estado madurativo, además de su implicancia en el sabor. En las bananas formoseñas en el estadio madurativo 5 según la escala Von Loesecke la acidez titulable fue de $0,42 \pm 0,06$ g ácido málico/100 g de pulpa fresca, mientras que Anyasi y col. (2015) reportaron 1,65 g ácido málico/100 g y Coulibaly y col. (2007) determinaron 1,83 g ácido málico/100 g en la variedad “Orishele”, siendo estos valores superiores a los hallados en este trabajo.

Al igual que la concentración de ácidos orgánicos, relacionada con el proceso de maduración y utilizada como indicador de madurez, la concentración de azúcares también está asociada a ello (Kheng y col., 2012). Durante el proceso de maduración se produce la hidrólisis de polímeros de carbohidratos, lo que cambia el sabor y la textura de las bananas. El aumento del contenido de azúcares simples la hace más dulce y, por lo tanto, más aceptable.

El contenido de sólidos solubles en la variedad producida en Formosa medidos en °Brix estuvieron en el orden de $22,22 \pm 1,56$. Los azúcares pueden ser utilizados como índice de maduración o estado de madurez, ya que a medida que avanza la maduración existen mayores concentraciones de azúcares simples, importantes para la selección de materiales con fines de industrialización (Peña y col., 2006). Cuando las bananas son cosechadas en la madurez fisiológica, tienen aproximadamente un 20 a 25% de almidón, el cual es hidrolizado casi totalmente durante la maduración organoléptica para ser transformado en azúcares solubles, principalmente sacarosa, glucosa y fructosa (Kheng y col., 2012).

Cano y col. (1997) compararon algunos parámetros de calidad de las bananas españolas con uno de los cultivares latinoamericanos más extendido, encontrando que la mayor concentración de azúcares totales correspondió a la variedad española con 11,07 g /100 g de peso fresco. En contraste, los valores obtenidos para la variedad producida en Formosa fueron notablemente superiores, alcanzando $22,15 \pm 7,78$ g/100 g de carbohidratos totales, lo que representa un rasgo diferencial y característico de estas bananas formoseñas.

El contenido de materia seca en las bananas formoseñas fue de $25,34 \pm 0,76$ g/100 g de peso fresco, un valor comparable con las variedades españolas "Gran Enana" (25,96 g/100 g) y "Enana" (29,76 g/100) (Cano y col., 1997). Además, en este trabajo de tesis, se determinó el contenido en cenizas obteniéndose un valor promedio

de $5,59 \pm 1,46$ %, ampliamente superior a los reportados por Anyasi y col. (2015) ($1,33 \pm 0,11$ %); Pareek (2016) (2,94%); Menesez y col. (2011) ($3,14 \pm 0,02$ %) y Coulibaly y col. (2007) (1,89%). Lo que denota el gran aporte en minerales de las bananas formoseñas en la dieta de sus consumidores.

Según Bennett y col. (2010), el poder antioxidante en las bananas se atribuye en primer lugar a los compuestos fenólicos presentes en la pulpa y en segundo lugar a la presencia del ácido ascórbico. La determinación de estos compuestos antioxidantes es de gran importancia desde la perspectiva nutricional. En el presente trabajo, las pulpas de bananas formoseñas analizadas presentaron un valor de $545,83 \pm 86,98$ mg EAG/100 g de fenoles totales, valores significativamente más elevados que los reportados por otros autores medidos con la misma técnica, como Sarawong y col. (2014) con 220,30 mg de EAG/100 g y Fu y col. (2011) que informaron valores de 57,13 mg de EAG/100 g. Sin embargo, comparados con los resultados de Anyasi y col. (2015) son inferiores, ya que estos obtuvieron un contenido de fenoles totales de 707,87 mg de EAG/100 g.

Con respecto al contenido de ácido ascórbico se determinó un valor de $8,93 \pm 3,5$ mg/100 g de peso fresco para bananas formoseñas siendo significativamente superior al reportado por Wall (2006) para el cultivar “Williams” (4,5 mg/100 g) y por Lim y col. (2007), pero inferior al encontrado por Englberger y col. (2003) en la variedad “Karat” (12,7 mg/100 g) y por Hapsari y Lestari (2016) en Indonesia (16,45 mg/100 g). Esto sugiere que las bananas formoseñas presentan valores intermedios dentro de la variabilidad observada entre los distintos cultivares y regiones, lo que puede atribuirse tanto a diferencias varietales como al origen del cultivo.

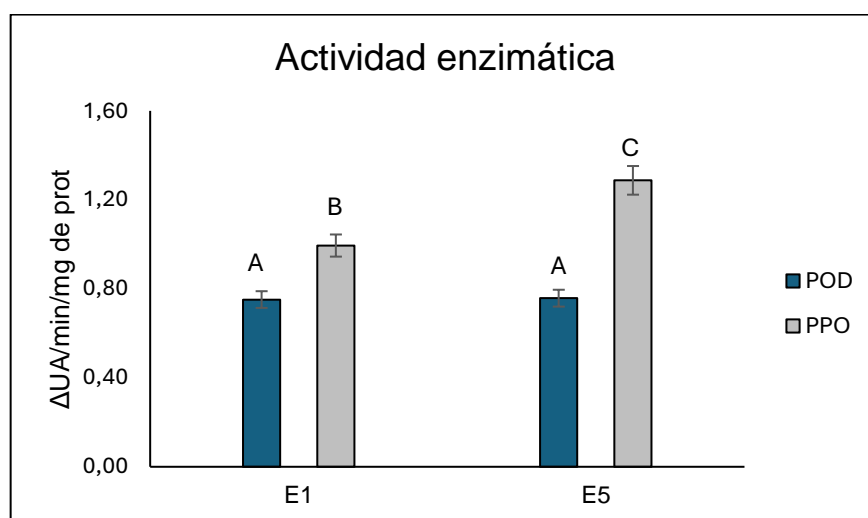
La capacidad antioxidante en las bananas formoseñas fue de $102,8 \pm 0,19$ μ MTrolox/g, inferior al valor reportado por Fu y col. (2011) (195 μ MTrolox/g) en bananas “royal”. Según Bennett y col. (2010), el poder antioxidante en las bananas se atribuye a los compuestos fenólicos presentes en la pulpa. Esto pudo ser corroborado en las

bananas formoseñas mediante un análisis de correlación de Pearson entre las variables capacidad antioxidante y concentración de fenoles totales obteniendo un $r^2=0,98$ ($p < 0,0001$). Por otra parte, no se encontró una correlación significativa $r^2=0,56$ ($p= 0,1132$) entre el contenido de ácido ascórbico y la capacidad antioxidante.

Los resultados obtenidos revelan las características nutricionales de las bananas formoseñas maduras, mostrando concentraciones elevadas de azúcares y compuestos antioxidantes. Estos hallazgos se corresponden con el grado de maduración E5 previamente definido según el color de la cáscara.

III.1.4. Actividad enzimática

Una vez realizado el análisis de pH óptimo de las enzimas PPO (pH=6,5) y POD (pH=5,0), se midieron sus actividades en dos estadios madurativos. Se evaluó la actividad enzimática de las bananas en estadio inmaduro, que se corresponde con la escala 1 de Von Losecke (E1) y en estado maduro, escala 5 (E5).



^{ABC} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre estadios, para un mismo tipo de enzima.

Figura III.3- Actividad enzimática en diferentes estados madurativos

La actividad de la enzima POD no mostró variaciones significativas entre los estadios de maduración evaluados, siendo de $0,76 \pm 0,33$ y $0,75 \pm 0,05$ $\Delta\text{UA}/\text{min}/\text{mg}$ proteína para los estadios 1 y 5 respectivamente. Ebrahim y col. (2016) encontraron valores de actividad de la enzima POD en pulpa de bananas maduras de $0,12 \text{ U mg}^{-1}$ de prot. Cano y col. (1990) hallaron que la actividad de la enzima POD en pulpa de bananas aumenta progresivamente hasta 31 % durante los primeros 15 días del proceso de maduración para luego disminuir al inicio de la senescencia.

Por su parte, la actividad de la enzima PPO fue estadísticamente diferente entre los estadios de maduración analizados. Inicialmente en E1 tuvo valores de $0,54 \pm 0,16$ $\Delta\text{UA}/\text{min}/\text{mg}$ proteína, el cual se incrementó significativamente en el E5 alcanzando valores de $1,29 \pm 0,19$ $\Delta\text{UA}/\text{min}/\text{mg}$ proteína (figura III.3). En comparación, Ebrahim y col. (2016) midieron la actividad de la enzima PPO en bananas maduras de *Musa cavendishii*. Enana hallando valores relativamente bajos de $0,36 \text{ U mg}^{-1}$ de prot

Los cambios de la actividad enzimática de un estadio a otro podrían explicarse como un proceso de diferenciación que implica la síntesis programada de enzimas específicas necesarias durante la maduración de la banana, de acuerdo con lo propuesto por Palmer (1971). Al inicio de la senescencia esta enzima cumple un papel primordial en el metabolismo de la fruta el cual se relaciona con el oscurecimiento de la cáscara y la pulpa.

Los resultados encontrados en este trabajo difieren de los reportados por Escalante-Minakata y col. (2018), quienes para la variedad *Giant Dwarf* encontraron que, en el caso de la enzima PPO, la actividad disminuyó a medida que avanzaba la maduración de la fruta, mientras que la actividad de la enzima POD mostró una tendencia opuesta. Previamente, García y col. (2006) estudiaron la actividad enzimática en bananas “Gros Michel” y encontraron que la actividad de la enzima PPO difiere

significativamente de un grado de maduración a otro, la actividad enzimática decrece a medida que avanza el proceso de maduración.

Lee (2007) indicó que la actividad de las enzimas oxidativas difiere según la variedad de fruta y la presencia de otras isoformas de las enzimas durante la maduración. Se han observado múltiples isoformas de la enzima PPO con propiedades químicas diferenciales. Las posibles razones de esta diferencia incluyen variabilidad en la fijación de los fenoles, proteólisis, cambios conformacionales, oligomerización y la presencia de genes distintos (Yoruk y Marshall, 2003; Cheema y Sommerhalter, 2015).

Estos resultados aportan información importante sobre la actividad de las enzimas oxidantes, contribuyendo a la selección posterior de las condiciones más adecuadas para el procesamiento y el control del pardeamiento enzimático.

III.1.5. Análisis de componentes principales

Con el fin de evaluar las interacciones de las variables químicas determinadas, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) y un análisis de correlación para indagar acerca de las posibles interrelaciones entre los compuestos fenólicos, las enzimas oxidantes PPO y POD, y otros parámetros como actividad antioxidante y contenido de ácido ascórbico.

El ACP (figura III.4) provee una aproximación para la construcción de estas nuevas variables sintéticas (CP1 y CP2) y para decidir cuántas nuevas variables podrían ser necesarias para representar adecuadamente la información original en los ensayos posteriores.

Los dos componentes principales (CP 1= 47,9 % y CP 2= 26,5 %) explicaron más del 70 % de la variabilidad total. El gráfico biplot permite visualizar la magnitud y signo de la contribución de cada variable a estos componentes principales.

A la izquierda del CP1 se encuentran agrupadas las variables vinculadas con el potencial antioxidante, fenoles y ácido ascórbico. Según Bennett y col. (2010), el poder antioxidante en las bananas se atribuye a los compuestos fenólicos presentes en la pulpa. Esto se pudo establecer estadísticamente observando el análisis de correlación (tabla III.3) entre las variables capacidad antioxidante y concentración de fenoles totales obteniendo un $r^2= 0,92$ (p -valor $<0,0001$) y en menor grado con ácido ascórbico ($r= 0,53$).

Las variables sólidos solubles, azúcares y acidez se encuentran agrupadas en la parte inferior de CP2, esto se debe a que las frutas, incluyendo las bananas, contienen muchos compuestos solubles en agua (azúcares, ácidos, aminoácidos y algunas pectinas). Estos compuestos solubles integran el contenido de los sólidos solubles de la fruta, siendo en bananas mayoritariamente azúcares (Velásquez y col., 2005). Los azúcares son un importante atributo utilizados como índice de maduración y en la evaluación de su calidad, confiriéndole un gran potencial como materia prima que puede ser aprovechada en diversos usos industriales.

Las variables fenoles totales, capacidad antioxidante y la actividad enzimática de la enzima PPO presentaron las mayores interrelaciones, de modo que podrían utilizarse para evaluar el efecto de los tratamientos aplicados en el puré de bananas para su conservación.

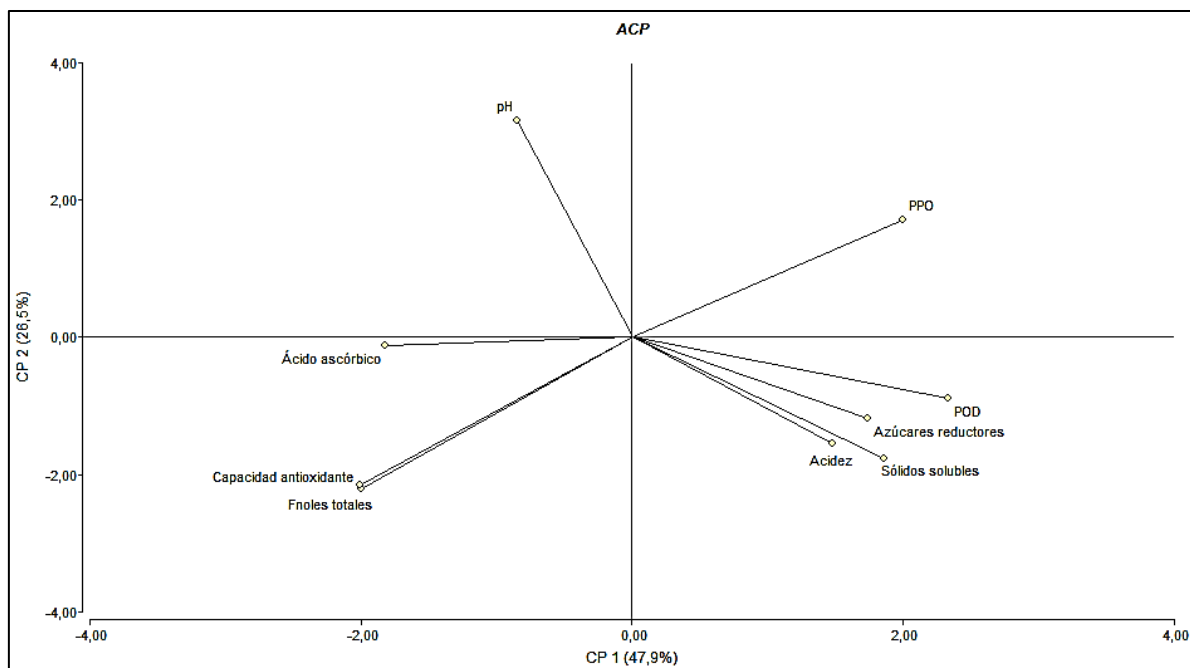


Figura III.4- Análisis de componentes principales

Las actividades de las enzimas PPO y POD se ubican a la derecha de la CP1, presentando mayor variación a lo largo del eje x, en este eje se ubicaron también las variables asociadas al sabor. Del lado derecho del cuadrante se ubicaron las variables acidez, en sentido opuesto el pH ($r^2 = -0,64$) y el contenido de azúcar, tanto azúcares reductores y sólidos solubles, representando en conjunto el 47,9 % del total.

Tabla III.3- Matriz de correlación/Coeficientes

	FT	Az Red	CAOX	AA	SS	pH	Acidez	PPO	POD
FT	1,00								
Az Red	-0,32	1,00							
CAOX	0,92	-0,35	1,00						
AA	0,48	-0,10	0,53	1,00					
SS	-0,14	0,31	-0,13	-0,23	1,00				
pH	-0,29	-0,47	-0,30	0,16	-0,56	1,00			
Acidez	-0,26	0,66	-0,20	-0,63	0,35	-0,64	1,00		
PPO	-0,92	0,34	-0,82	-0,36	0,34	0,08	0,22	1,00	
POD	-0,45	0,64	-0,56	-0,63	0,68	-0,44	0,62	0,46	1,00

En la matriz de correlación (tabla III.3) se puede observar una fuerte asociación negativa entre la actividad de la enzima PPO y los fenoles totales ($r^2 = -0,92$), lo que confirma que estas sustancias intervendrían en las reacciones enzimáticas, ya que, al aumentar la actividad de estas enzimas, la concentración de fenoles disminuiría al actuar como sustratos.

III.1.6. Conclusiones parciales

Se caracterizaron los frutos de banana producidos en Formosa durante 2017 y 2022, evaluándose sus propiedades físicas y composición química.

Los resultados obtenidos revelan las propiedades nutricionales de las bananas formoseñas maduras, mostrando concentraciones elevadas de azúcares y compuestos antioxidantes.

Sobre la actividad de las enzimas relacionadas al pardeamiento se encontró que el estadio de maduración tiene efectos sólo en la enzima PPO, aumentando su actividad en estadios más avanzados como el E5. Se estableció, además, una fuerte correlación negativa entre el contenido de fenoles y la actividad de la enzima PPO de los frutos.

En cuanto al estadio de madurez, los parámetros medidos en E5 se encuentran dentro de los límites aceptables de calidad, donde el porcentaje de ALF es bajo y los parámetros colorimétricos característicos de la cáscara de la banana como L^* y a^* , son elevados.

Estos datos contribuyen a la estandarización en la selección de las bananas para los ensayos posteriores con los cuales se pretende hallar las condiciones más adecuadas para el procesamiento y el control del pardeamiento enzimático.

III.2. Tratamientos físicos

III.2.1. Ensayos preliminares

Con el objetivo de seleccionar las condiciones apropiadas de los tratamientos físicos a aplicar en el puré, se hicieron una serie de ensayos preliminares empleando el atributo apariencia general como determinante de la calidad. Para ello, se prepararon lotes de puré de banana en fresco y purés de bananas sometidos a los tratamientos de luz UV-C en un rango de 1,97 a 3,18 kJ/m²; ultrasonido de 10-30 min; microondas de 200-800 W; tratamientos térmicos a 70-90 °C según se describió en la sección de Materiales y Métodos. Se organizaron sesiones de evaluación sensorial con un panel semi-entrenado, solicitando la valoración de la apariencia global del puré. Se estableció como punto de corte el valor de 3 puntos para la apariencia general, empleando una escala de evaluación de 5 puntos. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla III.4.

Tabla III.4- Puntaje del descriptor apariencia general de puré de bananas tratadas con UV-C, ultrasonido, microondas y escaldado.

Tratamiento		Puntaje total
UV-C	1,97 kJ/m ²	4,33 ± 0,58 ^{AB}
	2,64 kJ/m ²	2,67 ± 1,15 ^{CD}
	3,18 kJ/m ²	1,67 ± 0,58 ^D
Ultrasonido (50 W)	10 min	5,00 ± 0,01 ^A
	20 min	4,00 ± 1,00 ^{AB}
	30 min	3,67 ± 0,58 ^B
Microondas (30 s)	200 W	3,00 ± 0,01 ^C
	400 W	3,00 ± 0,01 ^C
	800 W	4,33 ± 0,58 ^{AB}
Escaldado (60 s)	70 °C	2,67 ± 0,58 ^D
	80 °C	2,00 ± 1,00 ^D
	90 °C	2,00 ± 1,00 ^D

^{ABCD} Para un mismo tratamiento aplicado, valores con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p < 0,05$).

Como se desprende de la Tabla III.4, es evidente que el puré tratado con la dosis de UV-C más baja (1,97 kJ/m²) tuvo los mayores puntajes para la apariencia general entre las muestras tratadas con radiación, observándose que a mayores dosis los purés recibieron puntajes inferiores al punto de corte. Sin embargo, todas las muestras tratadas con US presentaron valores superiores al establecido como aceptable. Los purés tratados con US durante 10 min recibieron el valor máximo promedio de 5,00 puntos. Las muestras tratadas a tiempos más prolongados tuvieron un color más pardo, una característica que los evaluadores lograron percibir habiéndoles asignado puntajes más reducidos.

En las muestras sometidas a los tratamientos con microondas se detectó una relación inversa entre la potencia del tratamiento y el desarrollo de pardeamiento, notándose a mayor potencia menor pardeo del puré. Los puntajes del descriptor apariencia general fueron superiores en las muestras tratadas a 800 W con un puntaje promedio de 4,33. Por otra parte, mientras que en los purés tratados con potencias más bajas se distinguieron cambios indeseables en su color.

Los evaluadores asignaron puntajes inferiores a 3 a los purés tratados térmicamente en el rango de 70° a 90°C. Las muestras mostraron manchas pardas y se distinguieron cambios en el aspecto superficial que fue descrito como “marmolado” por los evaluadores, lo que lo hacía poco atractivo (figura III.5).



Figura III.5- Pruebas preliminares de diferentes tratamientos físicos en puré de bananas

Estos ensayos preliminares permitieron seleccionar los tratamientos capaces de retener la calidad organoléptica del producto, para luego ser utilizados en los ensayos de almacenamiento refrigerado a tiempos prolongados evaluando su estabilidad.

Del análisis sensorial efectuado surge que, los tratamientos de UV-C, US y MO aplicados al puré fueron efectivos para obtener una apariencia general aceptada, en tanto el escaldado produjo cambios no deseados en la apariencia del producto, los cuales provocaron el rechazo del evaluador. Por este motivo no se continuó con el estudio del almacenamiento de los purés tratados térmicamente. Similares resultados fueron presentados por Palou y col. (1999) en puré de bananas tratadas con el tratamiento térmico de escaldado, donde se observó que afectó significativamente los parámetros de color como la disminución de la luminosidad a medida que aumentaba el tiempo de inmersión en agua caliente. También, Liu y col. (2019) evaluaron estos

tratamientos térmicos en albaricoque y junto con el cambio indeseado en el color se observó una disminución significativa en el contenido de nutrientes.

En base a las experiencias preliminares realizadas, se seleccionaron las siguientes condiciones:

- Tratamientos con radiación con luz UV-C: dosis de 1,97 kJ/m²
- Tratamientos con US: 40 kHz durante 10 min
- Tratamientos con MO: 800 W durante 25 s.

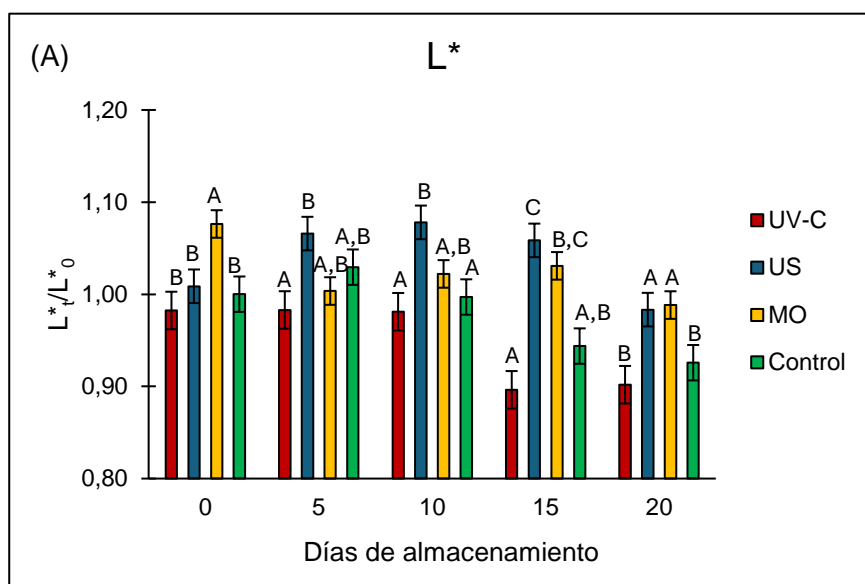
III.2.2. Evaluación del pardeamiento

Desde hace unos años se propone el uso del análisis digital de imágenes y el análisis fractal de imágenes, que son utilizados para medir de manera objetiva el color de diferentes alimentos. Estos métodos tienen ciertas ventajas respecto de otros métodos instrumentales como el colorímetro convencional, dado que permiten analizar cada píxel de la superficie del alimento, y así cuantificar las características y defectos de toda la superficie. Sin embargo, los colorímetros comerciales miden los parámetros de color L*, a* y b* en unos pocos centímetros cuadrados de la superficie (aproximadamente 2 cm²) y requieren de un alto número de mediciones para obtener mediciones representativas del color en el caso de tratarse de materiales heterogéneos, característica de la mayoría de los alimentos. Estas técnicas han sido utilizadas combinando una cámara digital y un software para el procesamiento de las imágenes resultando en métodos más económicos y versátiles para el estudio de los colores en alimentos, donde las condiciones de toma de imágenes han sido estandarizadas de manera adecuada (Amodio y col., 2011; Manninen y col., 2015; Cho y col., 2016; Escalante-Minakata y col., 2018).

En la figura III.6 (A, B, C) se muestra la evolución durante el almacenamiento refrigerado, de cada uno de los parámetros de color medidos en el puré de bananas en

función del tiempo para los 3 tratamientos aplicados. Los resultados se expresaron como el cociente entre el valor a tiempo t y el valor del control a tiempo 0 y fueron analizados estadísticamente.

Los valores encontrados para los parámetros L^* , a^* y b^* en el puré de bananas recientemente preparado fueron de $81,04 \pm 1,02$; $2,65 \pm 1,43$ y de $28,22 \pm 2,95$ respectivamente. Estos valores fueron similares a los reportados en muestras de bananas frescas por Guiné y Barroca (2014), quienes evaluaron el pardeamiento en pulpas de bananas *Musa nana* y *Musa cavendishii* sometidas a secado convectivo, y por Escalante-Minakata (2018) en pulpa de bananas “Giant Dwarf” estudiando el proceso de pardeamiento por medio del análisis de imagen.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.6 (A)- Evolución del parámetro colorimétricos L^* en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.

En general, el parámetro L^* disminuye con el desarrollo de fenómenos de pardeamiento en frutas y vegetales (Escalante-Minakata, 2018). Sin embargo, se pueden encontrar diferentes comportamientos de los parámetros de color en función de

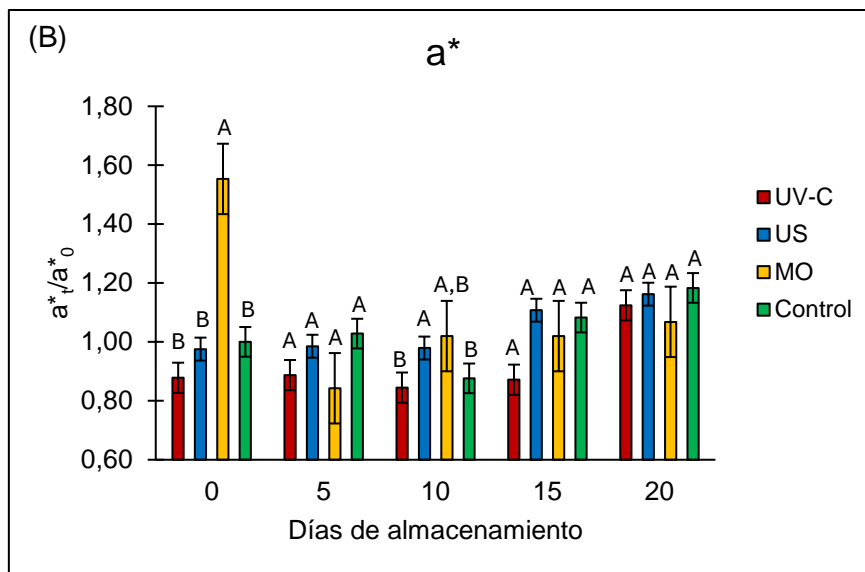
variaciones asociadas a otros procesos como estado de madurez, el tipo y presencia de pigmentos, susceptibilidad al pardeamiento e incluso el método instrumental de medición (Caivano y Buera, 2012).

Inmediatamente luego de los tratamientos con luz UV-C y US, no se observaron cambios en el valor de L^* . Janiszewska-Taruk y col. (2024), en cambio, observaron una disminución en los valores de L^* en puré de zanahoria con tratamientos de US en el rango de 0-35 kHz. Por otro lado, en el puré de bananas luego del tratamiento por MO el valor de L^* incrementó un $7,62 \pm 4,75$ % respecto del control. Este incremento significativo podría asociarse a un efecto de blanqueo por el tratamiento térmico aplicado (Dibanda y col., 2020). En contraste, Esehaghbeygi y col. (2014), reportaron un valor promedio de 62,82 para el parámetro L^* en pulpas de bananas y secadas con microondas, valores inferiores a los hallados en el presente trabajo ($L^* = 86,80 \pm 3,83$); también Maskan (2000) informó en un estudio también con bananas tratadas con microondas una disminución en el parámetro L^* de 71,01 a 53,25 a 700 W, inmediatamente después del tratamiento. Estos valores podrían ser resultado de reacciones de pardeamiento no enzimático que pudieron desarrollarse, debido a los tiempos prolongados y las temperaturas elevadas, lo cual provocó una disminución en el parámetro L^* del producto (Premakumar y col., 2018).

Durante el almacenamiento refrigerado, las muestras control presentaron una disminución significativa en el parámetro L^* de $7,42 \pm 0,34$ % respecto del valor inicial (figura III.6-A) en el día 15 y luego no mostró modificaciones. Sin embargo, el puré tratado con UV-C se mantuvo invariable hasta el día 10 de almacenamiento y luego descendió significativamente un $13,38 \pm 2,53$ % al día 15. Por otra parte, las muestras tratadas con US y MO presentaron valores para el parámetro L^* que fueron significativamente superiores a los encontrados en las muestras control. En el caso de las muestras tratadas con US, se observó un aumento significativo al día 5, manteniéndose sin cambios hasta el día 15 disminuyendo al final del almacenamiento.

Sin embargo, los purés tratados con MO mostraron una ligera tendencia a disminuir los valores de L^* al día 5, manteniéndose luego constante en valores próximos al correspondiente al puré control inicial. Coincidentemente, Xu y col. (2022) lograron retardar el pardeamiento en rodajas de papa con US a una intensidad media (40 kHz, 200 W) por 3 min, observando valores más elevados de L^* que en las muestras control durante todo el periodo de almacenamiento refrigerado.

Cuando se analiza el efecto de los tratamientos en un determinado día, se observa que los valores de L^* varían significativamente, resultando ser lo suficientemente sensible para detectar diferencias entre los mismos como se observa en la figura III.6-A. Zou y col. (2023), por su parte también encontraron variaciones significativas en L^* en función del tratamiento aplicado en el puré de bananas, en este caso una combinación de antipardeantes con presión hidrostática. Xu y col. (2016), en cambio, no hallaron diferencias estadísticamente significativas en el parámetro L^* en los diferentes tiempos del almacenamiento medidos en muestras de puré de bananas tratadas con altas presiones y aquellas que no fueron tratadas. Esto estaría evidenciando que la matriz vegetal y el tipo de tratamiento que se aplique influyen los cambios en este parámetro.

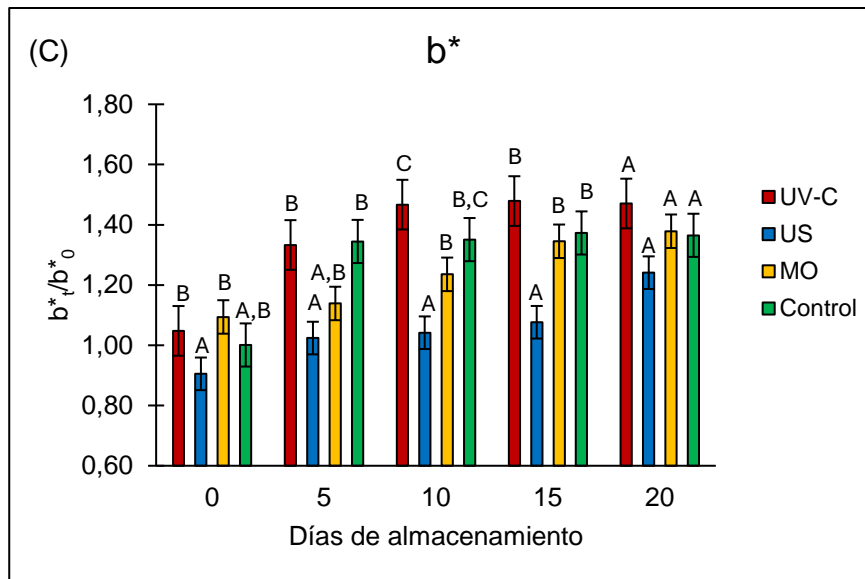


^{AB} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.6 (B)- Evolución del parámetro colorimétrico a^* en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C.

La aplicación de los tratamientos UV-C y US no modificaron los valores iniciales de a^* , pero, el tratamiento de MO produjo un incremento notable del $55,34 \pm 5,41$ % respecto del control, posiblemente por reacciones de pardeamiento no enzimáticos producidas por el calentamiento, en dónde se degradan ciertos pigmentos presentes en la pulpa de banana. Luego, durante el almacenamiento no se registraron cambios significativos de a^* en las muestras control y en las muestras tratadas. Sin embargo, en el puré tratado con MO a^* disminuyó al día 5 y se mantuvo sin cambios significativos hasta el día 20 de almacenamiento.

En la figura III.6 (C) se observa que en todos los casos ensayados el parámetro b^* tuvo una tendencia a aumentar durante el período de almacenamiento. Las muestras control presentaron un aumento significativo durante los primeros días de almacenamiento, con un valor inicial de $28,20 \pm 0,35$ que se incrementó en un $36,24 \pm 2,23$ % al quinto día de almacenamiento, permaneciendo luego sin cambios significativos hasta el final del almacenamiento refrigerado.



^{ABC} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.6- (C)- Evolución del parámetro colorimétrico b^* en puré de bananas control y tratados con luz ultravioleta UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C.

Las muestras tratadas con UV-C mostraron un aumento significativo en los valores del parámetro b^* del $33,01 \pm 1,67\%$ al día 5 de almacenamiento, no detectándose variaciones significativas hasta el final del almacenamiento. En este mismo sentido, Manzocco y col. (2011) demostraron que en pulpas de manzana a medida que eran sometidas a una dosis mayor de UV-C el valor de b^* aumentaba significativamente en comparación con las muestras tratadas a menores dosis. En contraste, Arias Gorman (2017) estudió la aplicación de UV-C en puré de mango, hallando que el parámetro b^* disminuyó de $51,96 \pm 0,10$ en el día 0 a $39,47 \pm 0,16$ en el día 10.

Las muestras sometidas a tratamientos con US también tuvieron incrementos de b^* superiores al 15% a los 5 días, alcanzando aumentos del orden del 28% al día 20 de almacenamiento. Etzbach y col. (2019) analizaron los efectos de la pasteurización térmica y el US en el puré de uchuva, según este estudio el US mejoró la intensidad del color (a^* y b^*), debido a la mayor liberación de carotenoides, lo que se tradujo en un aumento de b^* . En contraste, Xu y col. (2022) encontraron que el tratamiento con US a

en pulpa de papa no modificó el valor de b^* , así como tampoco detectaron cambios significativos durante el almacenamiento.

En las muestras tratadas con MO, la evolución del parámetro b^* fue similar a las tratadas con US, no encontrándose diferencias significativas respecto al control hasta el día 5. Luego de 10 días de almacenamiento, se registró un incremento significativo de $23,54 \pm 2,06 \%$, finalizando con un promedio de aumento de $37,85 \pm 1,96 \%$ con valores cercanos al control. Liu y col. (2015) evaluaron el efecto de los tratamientos térmicos de blanqueamiento con inmersión en agua y con MO en batatas, observando que el valor del parámetro b^* aumentó, posiblemente por una menor degradación de los pigmentos presentes en la muestra.

En términos generales, no existe un criterio unificado sobre el comportamiento de los parámetros colorimétricos en la evaluación de los cambios de color debidos al pardeamiento enzimático en productos procesados (Goñi y Salvadori, 2017; Piagentini y Pirovani, 2017). Los cambios de color por pardeamiento son también dependientes de factores como la heterogeneidad del material, particularidades del producto (pigmentos naturales), forma de procesamiento, etc.

Analizando las condiciones iniciales y finales para un mismo tratamiento, se observó que el parámetro b^* aumentó proporcionalmente cuando el puré de banana se tornó pardo, en mayor medida que las variaciones detectadas para el parámetro L^* . Sin embargo, el parámetro a^* no fue tan sensible a los cambios observados. Esto indica que el parámetro b^* podría seleccionarse como indicador de los cambios de color asociados al pardeamiento en puré de bananas.

Los cambios en los parámetros L^* y b^* se detectan en vegetales cuyas pulpas pueden ser blancas o amarillas, justamente por el espacio de color que representa cada uno, L^* la luminosidad y b^* los colores del amarillo hacia el azul, mientras a^* lo hace del verde al rojo. Liu y col. (2019) establecieron que el parámetro L^* , además del Chroma y

ΔE , evidencian el efecto sobre el pardeamiento de un determinado tratamiento; como así también Xu y col. (2022) han seleccionado los parámetros L^* y a^* para diferenciar el grado de pardeamiento en papas tratadas y no tratadas. Análogamente, Piagentini y Pirovani (2017) encontraron que en la pulpa de manzana el aumento de a^* , es representativo del pardeamiento enzimático, sin embargo, estos autores también mencionaron la importancia de seleccionar el parámetro más adecuado para describir los cambios de color asociados al pardeamiento enzimático para cada material. Otros autores como Escalante-Minakata y col. (2018) consideran que el parámetro L^* es el que caracteriza de manera más efectiva los cambios de color debidos al pardeamiento en pulpa de frutas; mientras que Esehaghbeygi y col. (2014) reportaron cambios significativos en los tres parámetros colorimétricos relacionados con los cambios de color asociados al proceso de deshidratación en pulpa de bananas, indicando que los parámetros L^* y b^* aumentan y el parámetro a^* disminuye. Xu y col. (2016) por su parte evaluaron los efectos de la aplicación de dos métodos de preservación en puré de bananas: altas presiones (500 MPa por 10 min) y pasteurizado (90 °C por 2 min), en dicho estudio hallaron que el parámetro a^* aumentó su valor con las altas presiones y con el pasteurizado se redujo.

Con respecto a los parámetros C^* y h° medidos, inicialmente mostraron valores en el rango de $24,01 \pm 0,55$ a $29,90 \pm 1,98$ y $80,27 \pm 0,25^\circ$ a $86,55 \pm 1,21^\circ$, respectivamente.

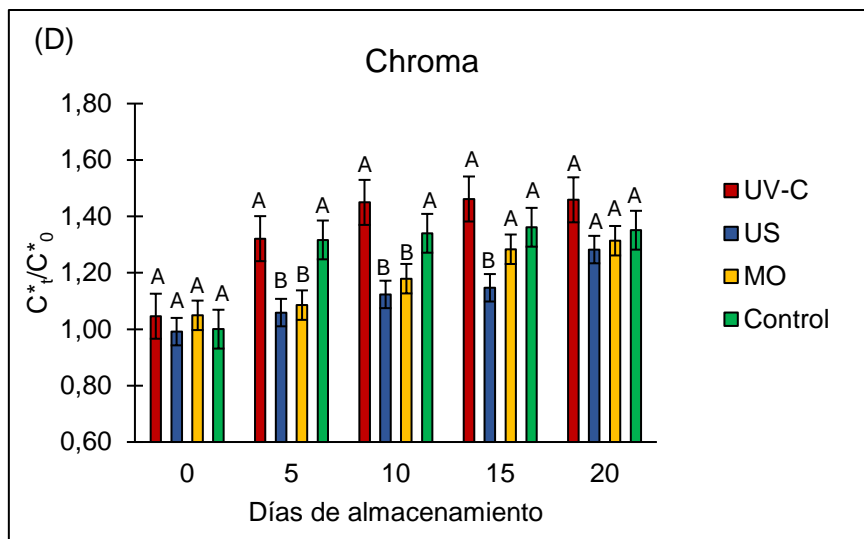
Tabla III.5- Evolución del parámetro hue (h°) durante el almacenamiento refrigerado

Tiempo (Días)	Control	UV-C	US	MO
0	$84,36 \pm 1,79^{A,B}$	$80,27 \pm 0,25^B$	$86,55 \pm 1,21^A$	$83,46 \pm 2,66^{A,B}$
5	$85,79 \pm 2,21^{A,B}$	$82,84 \pm 0,72^B$	$86,02 \pm 1,55^{A,B}$	$87,88 \pm 1,11^A$
10	$86,27 \pm 0,74^A$	$84,32 \pm 0,74^A$	$85,09 \pm 1,67^A$	$86,27 \pm 0,41^A$
15	$85,30 \pm 0,99^A$	$84,18 \pm 0,74^A$	$85,84 \pm 1,61^A$	$86,60 \pm 0,04^A$
20	$85,21 \pm 0,74^{A,B}$	$82,48 \pm 1,06^B$	$86,66 \pm 0,90^A$	$87,99 \pm 0,07^A$

^{A,B,C,D} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos

Como puede observarse en la tabla III.5, los valores del parámetro h° se mantienen relativamente invariables en el tiempo para todos los tratamientos. El puré tratado con UV-C tiene valores más bajos en general, indicando una disminución de la tonalidad amarilla. En el día 0, el tratamiento con UV-C fue significativamente diferente a US, pero no respecto de las muestras control ni tratadas con MO. El tratamiento con US tiene un mayor valor inicial de h° , seguido por los purés control y MO. Al día 20, el hue del puré tratado con UV-C fue significativamente diferente al de los tratados con MO y US, demostrando que dicho tratamiento afecta de manera diferencial la evolución del color.

El parámetro C^* mostró aumentos significativos durante el almacenamiento (figura III.6- D), proporcionales a la variación de b^* ya que el parámetro a^* permaneció prácticamente constante. Las muestras tratadas con luz UV-C aumentaron significativamente en un $45 \pm 0,02 \%$ el día 10 y sin cambios hacia el final del almacenamiento. El tratamiento con US, al día 5 presentó un incremento en C^* de $6 \pm 0,06 \%$ y al día 20 fue de $28 \pm 0,02 \%$ mostrando diferencias significativas en relación con el tiempo de almacenamiento. Las muestras tratadas con MO tuvieron un incremento similar a las muestras tratadas con US, alcanzando $31 \pm 0,04 \%$ el día 20. Al igual que con el parámetro b^* , con el parámetro C^* se demuestra objetivamente el retraso en el pardeamiento con los tratamientos US y MO, diferencias también observadas en forma directa.

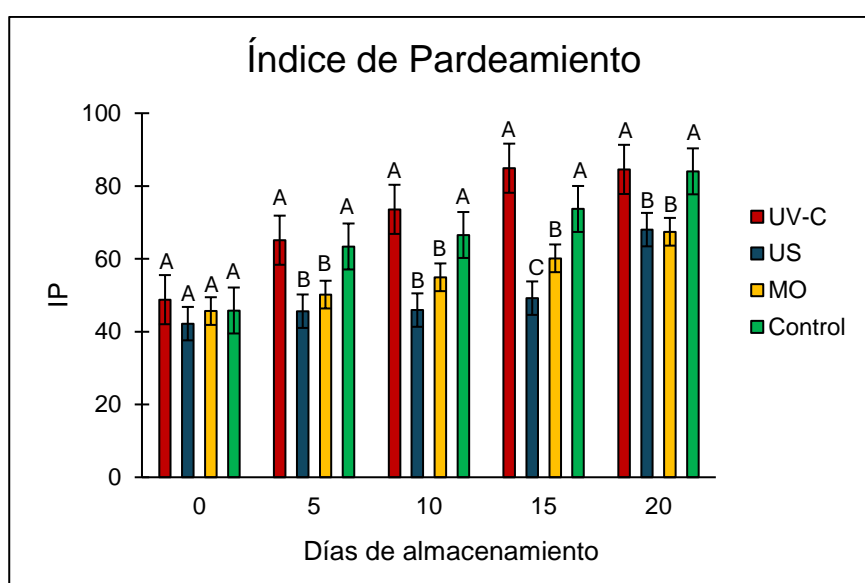


ABC Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.6- (D)- Evolución del parámetro colorimétrico Chroma (C*) en puré de bananas control y tratados con luz ultravioleta UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C.

El IP (figura III.7) mostró valores iniciales de $45,94 \pm 0,21$ en el puré de bananas control, sin registrarse cambios significativos en el valor IP del puré recién tratado. Durante el almacenamiento, se registró un incremento significativo alcanzando a los 20 días un $IP = 84,03 \pm 1,06$ en el puré sin tratamiento. Los cambios de color al finalizar la experiencia fueron evidentes a simple vista. Asimismo, se observó un aumento significativo de IP en las muestras irradiadas con UV-C durante todo el almacenamiento, presentando en el día 5 un valor promedio de $74,50 \pm 3,31$, superior al de las muestras control. Este incremento estaría asociado a la acción de la irradiación UV-C que puede dañar estructuras celulares y desencadenar un proceso bioquímico de síntesis de fenilpropanoides, catalizado por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL, EC 4.3.1.24), que regula la síntesis de varios compuestos fenólicos, susceptibles de oxidación (Nguyen y col., 2003; Yu y col., 2021, Sui y col., 2023). Con relación a esto, Gómez y col. (2010) reportaron que las muestras de pulpa de manzanas expuestas a la luz UV-C presentaron mayor desarrollo de pardeamiento enzimático en comparación con las muestras de manzanas control. Este efecto fue más pronunciado a la mayor dosis de

UV-C ensayada, observándose al microscopio electrónico la ruptura de membranas celulares en respuesta al daño que tuvo lugar luego del tratamiento. Por otro lado, Zhelyazkov y Manev (2024) ensayaron diferentes tratamientos de conservación en mermelada de pera y entre ellos UV-C a 200 W (sin especificar la dosis) y fue la que tuvo el menor impacto en la coloración de la mermelada con un IP de $12,69 \pm 1,13$ similar a la del control ($12,24 \pm 0,76$) y significativamente diferente a los otros tratamientos, el pasteurizado y el ultrasonido que registraron valores más altos.



^{ABC} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.7- Evolución del IP en puré de bananas control y tratados con luz UV-C, US y MO almacenadas a 4 °C.

En las muestras tratadas con MO y US, los valores iniciales de IP fueron $45,62 \pm 1,74$ y $45,82 \pm 2,02$, respectivamente, sin mostrar diferencias significativas con la muestra control. Tanto en las muestras tratadas con MO como con US, los cambios de color asociados al pardeamiento enzimático fueron menores que en la muestra control desde el día 5 y hasta el día 20. Se observó un menor incremento de IP a lo largo del almacenamiento para ambos tratamientos en comparación con el control ($p < 0,05$). Con el tratamiento US, el retraso en la aparición de cambios de color por fenómenos de

pardeamiento enzimático fue más evidente, presentando diferencias significativas ($p < 0,05$) con la muestra control desde el día 5 hasta el final del almacenamiento, donde alcanzó un valor de IP de $68,02 \pm 0,62$ similar al tratado con MO en el día 20. Tanto en muestras tratadas con US como con MO, los cambios de color relacionados al pardeamiento enzimático fueron de menor intensidad que en el control. Esto podría indicar que hubo inactivación de las enzimas oxidantes ya que no se observan diferencias de color perceptibles respecto del puré “recién” preparado.

En la figura III.8 se muestran los colores superficiales de los purés de bananas tratados con UV-C, US y MO luego de 20 días de almacenamiento refrigerado. Se puede apreciar que las muestras tratadas con MO y US presentan colores superficiales sensorialmente aceptables, semejantes al color original del puré de banana recién preparado. Las diferencias estadísticamente significativas en los parámetros colorimétricos de la muestra tratada con UV-C, también se confirmaron mediante la observación visual.

Los resultados de este trabajo indican que los parámetros colorimétricos detectados en imágenes digitales proporcionan una evaluación específica y cuantificable respecto del cambio de color global, los cuales pueden considerarse como un indicador del pardeamiento enzimático en puré de bananas. Además, la técnica de adquisición y análisis de imagen por computadora es una herramienta útil para investigar el efecto de los tratamientos preservantes sobre uno de los parámetros calidad del puré de bananas.

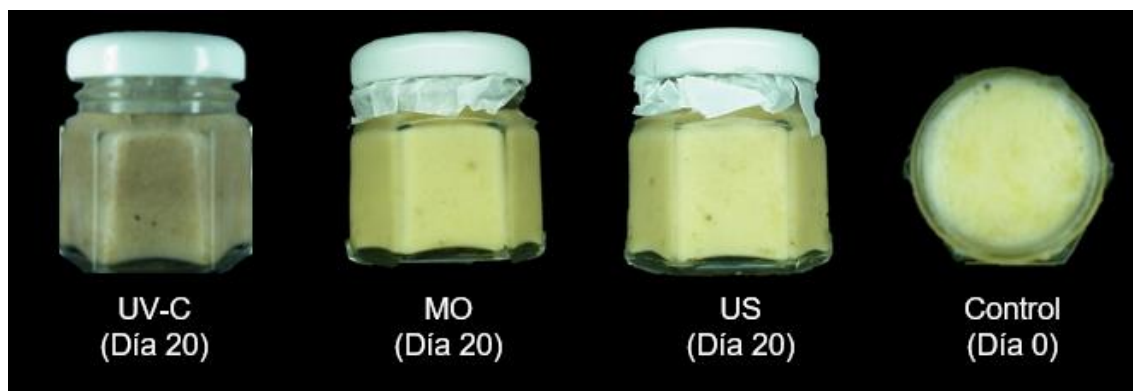


Figura III.8- Color superficial de purés de bananas control (día 0) y tratados con luz UV-C, US y MO envasados a los 20 días de almacenamiento a 4 °C.

III.2.3. Actividad enzimática

Ali y col. (2015) reportaron que la actividad enzimática en bananas está fuertemente correlacionada con el índice de pardeamiento ($r^2 = 0,96$), lo que indica que el proceso de pardeamiento es principalmente enzimático, siendo PPO y POD las enzimas involucradas.

En la figura III.9 se exponen los resultados encontrados para las actividades de las enzimas PPO y POD expresadas como cociente entre la actividad enzimática a un *tiempo t* de las muestras tratadas (AE_t) y la actividad enzimática a tiempo 0 del control (AE_0).

Las muestras control presentaron la actividad máxima para la enzima PPO con $3,02 \pm 0,16 \Delta UA_{420}/\text{min}/\text{mg prot}$ inmediatamente después de la preparación del puré; esto podría asociarse a que, en esos primeros momentos, la enzima PPO puede encontrarse en su estado más activo ya que la estructura de la enzima PPO aún no ha sido afectada por factores como la autoinhibición, la degradación proteica o la inactivación por cambios en el medio (Gooding y col., 2001; Sulaiman y col., 2015). En el día 15 de almacenamiento, el control mostró una disminución significativa en la actividad de la enzima PPO con un valor promedio de $1,210 \pm 0,25 \Delta UA_{420}/\text{min}/\text{mg prot}$, posiblemente porque las enzimas son inhibidas por productos de la misma reacción

enzimática o de reacciones acopladas (Silva 2000). Sin embargo, el día 20 de almacenamiento hubo un aumento significativo de la actividad enzimática de PPO que podría deberse a la activación de la enzima latente o síntesis *de novo* (Soliva y col., 2001; Zhou y col., 2016).

En la Figura III.9 (A), se observa que, inmediatamente después del tratamiento con UV-C, la actividad enzimática de la PPO disminuyó significativamente. No obstante, en el día 5 alcanzó su nivel máximo, con un aumento del 10 % en comparación con la actividad inicial. Hacia el final del almacenamiento, no se detectaron diferencias significativas respecto a las muestras control. Juárez-Enriquez y col. (2016), sin embargo, evaluaron el efecto de la irradiación UV sobre la actividad enzimática y la estabilidad de los compuestos bioactivos en jugo de manzana, encontrando que una dosis total de 320,37 W/m² aplicada durante 180 minutos se logró la inactivación completa de la PPO; mientras que Manzocco y col. (2009) también lograron una reducción del 100 % en la actividad de la enzima PPO después de 60 min a una dosis de 13,8 W/m² de UV-C en pulpa de manzanas. En estas investigaciones, las dosis fueron considerablemente más altas y no comparables con nuestras condiciones experimentales ya que dosis > 0,13 W/m² tuvieron efectos indeseables en el puré de banana, acelerando el pardeamiento.

Por otra parte, la actividad de la enzima PPO medida al inicio del almacenamiento en las muestras tratadas con US no mostró diferencias significativas con la actividad enzimática de la muestra control. Sin embargo, a lo largo del almacenamiento el puré de bananas tratado con US presentó una reducción significativa ($p < 0,05$) de la actividad de la enzima PPO, alrededor del 40 %, a los días 5 y 10, lo que podría indicar una inactivación parcial de la enzima. Otros autores han informado que a bajos niveles de potencia de US, se promueve la activación de la PPO. Sun y col. (2015) obtuvieron resultados que indicaron que la actividad de PPO se incrementó con tratamientos de US a 25 kHz por 10 min en jugo de manzana; de manera similar Costa y col. (2013)

encontraron un aumento de 3,91 % en la actividad de la enzima PPO en jugo de ananá sometido a tratamiento con US durante 6 min. La razón podría ser que a baja potencia de US se causa la ruptura de las paredes celulares biológicas que facilitan la liberación de su contenido e inducirían la activación de enzimas (O'Donnell y col., 2010). Por otra parte, Silva y Sulaiman (2022) estudiaron el efecto de la combinación del ultrasonido y temperatura sobre la actividad de la PPO en puré de frutillas y observaron una reducción mayor de la actividad enzimática como resultado de la aplicación del ultrasonido.

Chandrapala y col. (2012) sugieren que el mecanismo de inactivación de la enzima PPO por US, se produce por la fragmentación de la enzima o la formación en agregados de enzimas monoméricas, lo que se atribuye a los efectos de cavitación generados por el colapso de las burbujas (mecánico, térmico, químico), o la agitación extrema creada por la microcorriente que podrían interrumpir las interacciones de Van der Waals y los enlaces de hidrógeno en el polipéptido. A la fecha aún no están dilucidados los mecanismos y las condiciones de los tratamientos con US que activan o inactivan la actividad de las enzimas.

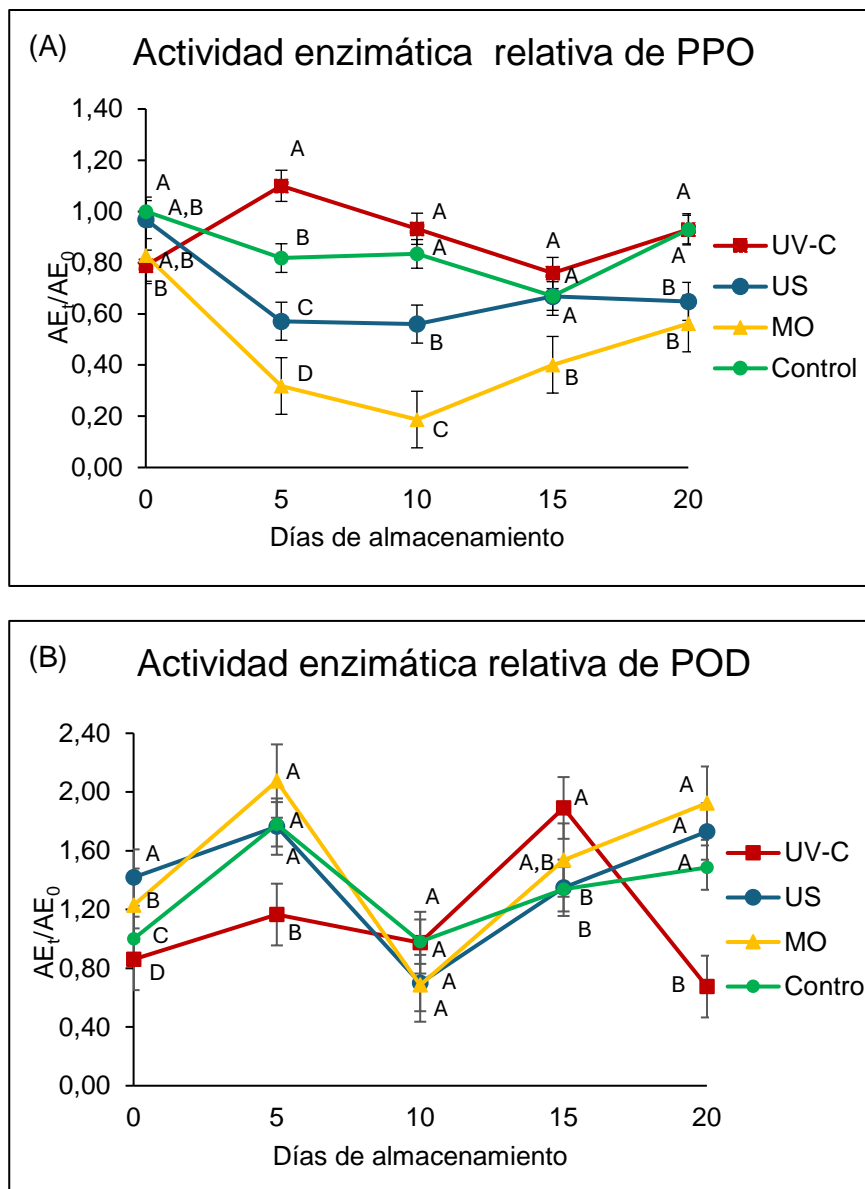
Las enzimas oxidativas, de naturaleza proteica, se dañan fácilmente mediante el calentamiento con MO. Esta tecnología se basa en la respuesta de las moléculas polares del material frente a un campo magnético variable, que rotan y se desplazan lateralmente millones de veces por segundo tratando de alinearse con las líneas de fuerza del campo. Esta interacción genera calor en el material y se inicia el proceso de calentamiento a velocidades muy superiores a las obtenidas en los métodos convencionales. La disminución de los tiempos de procesamiento es una de las principales ventajas del tratamiento con MO. En el presente trabajo de tesis, la actividad de la enzima PPO se redujo significativamente entre 70 a 80 % en el puré de bananas tratado con MO, registrados en el día 5 y 10 del almacenamiento. Sin embargo, luego de 20 días aumentó respecto de los valores registrados previos al día 15, por lo que, en cierta medida, la inactivación de la enzima sería reversible. Al igual que los datos

obtenidos por Cano y col. (1997) en bananas cortadas tratadas con microondas a 650 W por 30 s, logrando una actividad enzimática de PPO residual del 49 %.

La enzima POD puede catalizar una gran cantidad de reacciones en las que se reducen peróxidos (H_2O_2 principalmente), mientras se oxida un agente capaz de ceder electrones, y se considera que los productos de esta reacción tienen una relación directa con los sabores y colores desagradables en fruta y vegetales (Ganjloo y col., 2011). Las reacciones catalizadas por la enzima POD son relevantes para el desarrollo del pardeamiento ya que los difenoles producidos por acción de la enzima PPO, pueden actuar como sustrato reductor en la reacción enzimática y promover la aparición de colores pardos, aunque este proceso está limitado por la disponibilidad de compuestos aceptores de electrones como radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos (Richard-Forget y Gauillard, 1997; Chisari, y col., 2007).

En el caso del puré de bananas control, se encontró que la actividad de la enzima POD fue inicialmente de $3,268 \pm 0,02 \Delta\text{UA}_{470}/\text{min}/\text{mg prot}$ y la misma se incrementó hasta alcanzar una actividad máxima al día 5 de $6,631 \pm 0,14 \Delta\text{UA}_{470}/\text{min}/\text{mg prot}$. Las formas latentes de la enzima podrían activarse tiempo después del procesamiento, en respuesta al estrés físico (Christopoulos y Tsantili, 2015), o posiblemente por solubilización de aquellas que formaban parte estructural de la pared celular (Vitti y col., 2011).

Diversos autores han reportado la presencia de dos fracciones de la enzima POD; una fracción termolábil que es inactivada fácilmente a bajas temperaturas ($\leq 70^\circ\text{C}$) y otra termorresistente (Morales-Blanca y col., 2002; Soysal y Soylemez, 2005). La actividad de la isoenzima termorresistente es la que debe inhibirse para lograr que el tratamiento térmico antipardeante sea efectivo. Es probable que la temperatura alcanzada en este trabajo ($68,0 \pm 2,82^\circ\text{C}$) en el tratamiento con MO no fue suficiente para inactivar la enzima POD.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.9 - Actividad enzimática residual relativa de PPO (A) y POD (B) en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US, MO almacenadas a 4 °C.

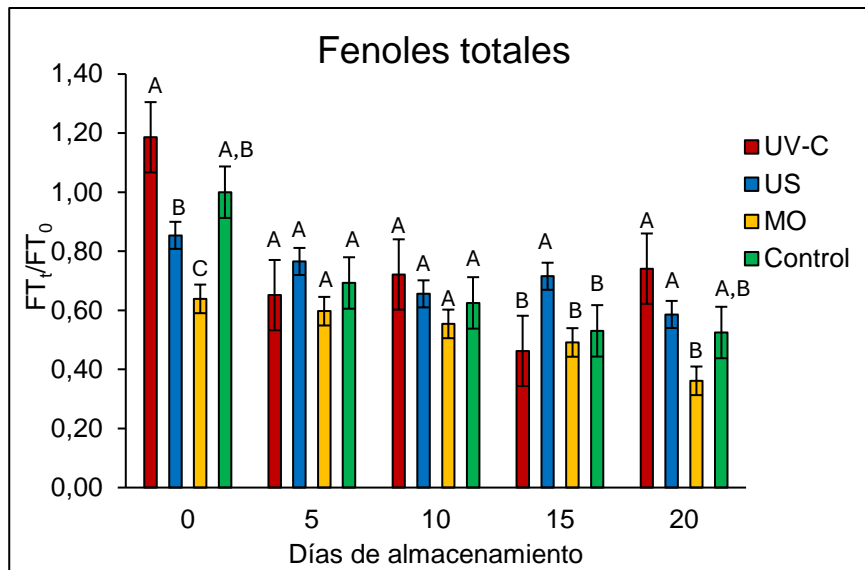
En la figura III.9 (B) se observa que la actividad de la enzima POD en el puré tratado con luz UV-C tuvo una evolución en el tiempo diferente al puré sin tratamiento, alcanzando valores más reducidos a los 20 días de almacenamiento. Sin embargo, los purés tratados con US y MO muestran una actividad enzimática similar al puré control. También se puede apreciar que el tratamiento con la luz UV-C logró inhibir la actividad de la enzima POD en los primeros 5 días del almacenamiento. Los tratamientos con US

y MO no permitieron el desarrollo de oscurecimiento en el puré hasta 15 días de almacenamiento refrigerado. US presenta una alta capacidad de inhibición de la actividad enzimática de PPO; por lo tanto, parece tener un gran potencial para aplicaciones prácticas. El tratamiento con MO por su parte también es altamente efectivo en el control del pardeamiento enzimático, ya que disminuye significativamente la actividad de PPO y el puré no desarrolla oscurecimiento. Sin embargo, habría que evaluar sus efectos sobre los compuestos nutricionales como los antioxidantes para definir el tratamiento más adecuado.

III.2.4. Fenoles totales y capacidad antioxidante

El contenido y tipo de compuestos polifenólicos están directamente asociados con el pardeamiento, dado que son los principales sustratos de las enzimas oxidativas. Por otra parte, entre sus propiedades se puede destacar su potencial antioxidante como captadores de radicales libres (Robards y col., 1999; Rocha y Morais, 2001; Persic y col., 2017). Por lo que el desarrollo de pardeamiento enzimático y el potencial antioxidante quedan interconectados o relacionados de manera inversa en la mayoría de los casos.

El contenido de fenoles totales en el puré de bananas recién preparado fue de $416,31 \pm 6,70$ mg EAG/100g de puré, resultado similar al reportado por Anyasi y col. (2015) para este fruto, cultivar Luvhele. En el quinto día de almacenamiento se encontró una disminución significativa a $218,59 \pm 33,02$ mgEAG/100 g de puré en la muestra control, alcanzando valores finales de $210,34 \pm 28,33$ mgEAG/100 g de puré.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.10- Variaciones en la concentración de compuestos fenólicos en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.

La aplicación de la dosis 1,97 kJ/m² de UV-C generó un incremento significativo en el contenido de fenoles totales del puré de banana al inicio del almacenamiento. La luz UV-C induce un estrés biológico, estimulando los mecanismos de defensa de los tejidos en vegetales. Estos efectos incluyen: la acumulación de compuestos antimicrobianos (fitoalexina), la modificación de la pared celular, un aumento en la actividad de las enzimas de defensa y la producción de fenoles antioxidantes (Corzo-Martínez y col., 2012). En bananas cortadas tratadas con radiación UV-C (30 min a 2,15 kJ/m²), Alothman y col. (2009) informaron que los valores de capacidad de antioxidante (FRAP y DPPH•) aumentaron significativamente con el aumento de la dosis y esto lo atribuyeron a la acumulación de compuestos fenólicos generados en respuesta al estrés abiótico inducido por la radiación UV-C. Estos autores además informaron que con una irradiación de 30 min en pulpa de bananas lograron aumentar la concentración de compuestos fenólicos de $72,21 \pm 2,03$ a $134,16 \pm 1,95$ mg GAE/100 g.

Posteriormente el contenido de fenoles totales en las muestras sometidas a tratamientos con UV-C disminuyó progresivamente a lo largo del almacenamiento

refrigerado, finalizando con un valor de $300,35 \pm 24,85$ mgEAG/100 g de puré, relativamente mayor que la muestras Control y las demás muestras tratadas. Pudiéndose deber a que se activaron las vías enzimáticas de oxidación de los sustratos fenólicos ya que coincide con el aumento del pardeamiento.

El contenido de fenoles totales en muestras tratadas con US fue de $411,73 \pm 20,71$ mgEAG/100 g de puré al inicio de la experiencia. Este valor resultó 15% menor (figura III.10) al encontrado en la muestra sin tratar, probablemente debido al efecto del sonificado sobre estos compuestos bioactivos. De acuerdo con Rojas y col. (2021), el ultrasonido puede tener efectos tanto positivos como negativos en los compuestos bioactivos de frutas y vegetales. Por un lado, facilita la liberación de antioxidantes como carotenoides, fenoles y flavonoides; y por otro lado puede generar reacciones de degradación de compuestos sensibles, como la vitamina C y ciertos carotenoides, especialmente a altas intensidades o tiempos prolongados de procesamiento. Ríos Romero y col. (2018) atribuyen la reducción de compuestos fenólicos en batatas tratada con ultrasonido a la degradación por radicales libres formados durante los fenómenos de cavitación.

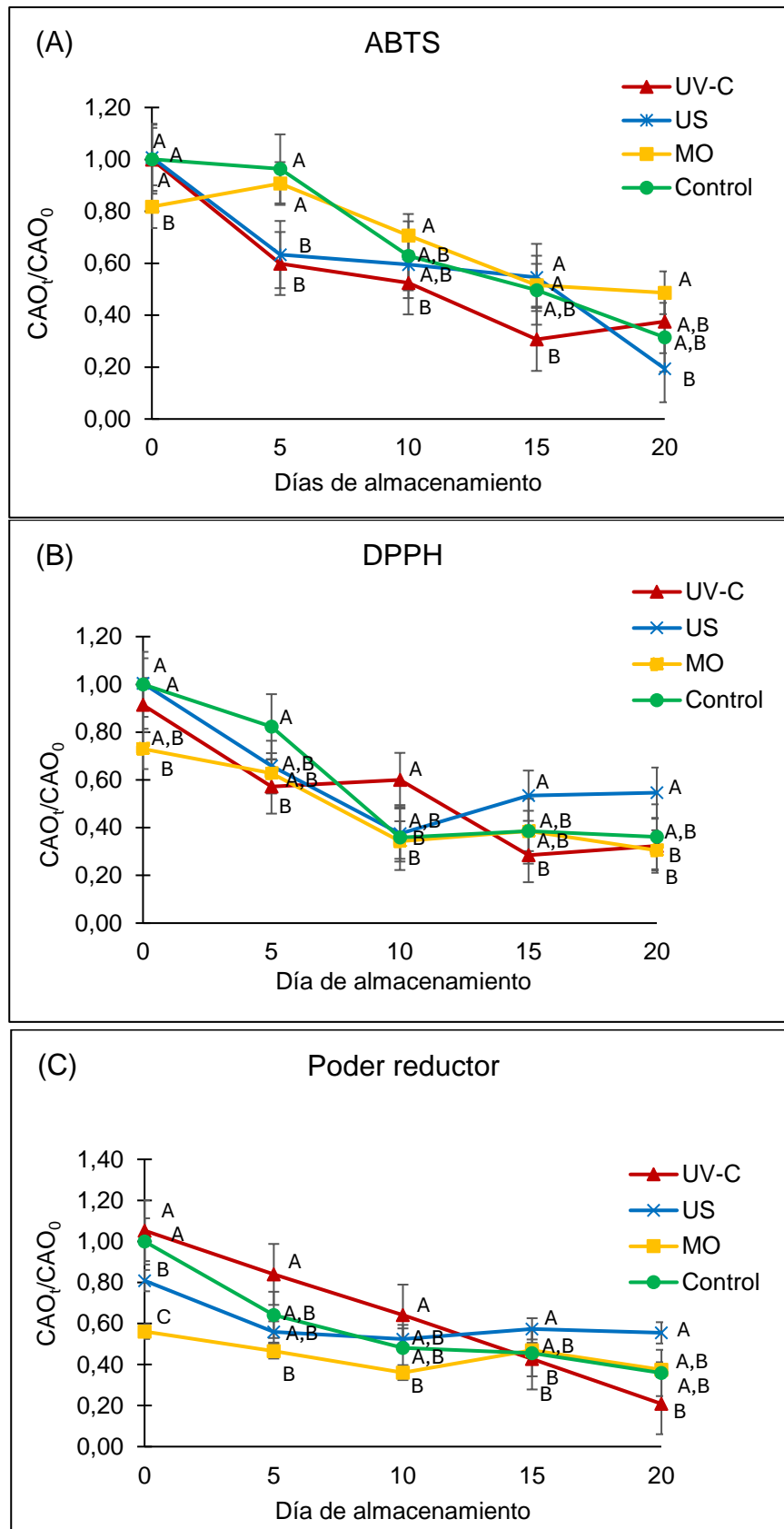
Por otra parte, también el tratamiento con MO mostró una disminución significativa ($p < 0,05$) en el contenido fenólico de 36%, probablemente por la degradación de compuestos bioactivos termosensibles, en mayor medida los fenólicos. Dibanda y col. (2020) también observaron una reducción de ciertos compuestos fenólicos en bananas tratadas con microondas a 720 W, explicando que con el tratamiento térmico estos compuestos podrían estar involucrados en reacciones de Maillard. Cano y col. (1997) también reportaron una disminución significativa en la concentración de compuestos fenólicos en bananas cortadas tratadas como consecuencia del tratamiento térmico con microondas a 650 W por 30 s.

Si bien la tendencia del contenido de fenoles totales, en todos los purés tratados y el control, mostró una disminución de su concentración, es importante considerar las

variaciones iniciales que se producen inmediatamente después de procesar y aplicar el tratamiento en las bananas, ya que es cuando se evidencian con mayor claridad las diferencias entre los tratamientos. Se podría deducir que la luz UV-C resulta favorable a corto plazo debido al aumento de bioactivos, atribuible a la activación de la vía de los fenilpropanoides donde estos se sintetizan. Por el contrario, los tratamientos con US y MO parecen presentar una desventaja debido a la pérdida de estos componentes nutricionales, que se produce tras sus aplicaciones.

La capacidad antioxidante (CAO) viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos, así como el modo de acción específico de cada uno de ellos, por lo que es necesario combinar más de un método para evaluar correctamente la capacidad antioxidante en los alimentos. En este estudio se utilizaron tres métodos para evaluar especies antioxidantes con reactividad diferencial (ABTS^{•+}, DPPH[•] y FRAP). El ensayo con DPPH[•] sirve para estimar la actividad antioxidante de extractos que contienen sustancias químicas donadores de hidrógeno, y es más sensible a los compuestos fenólicos (Marinova y Batchvarov, 2011). Por otro lado, el ensayo ABTS^{•+} mide la capacidad de los antioxidantes para desactivar un radical catiónico en ambientes tanto lipofílicos como hidrofílicos, con mayor sensibilidad hacia los ácidos orgánicos; mientras que el método Poder Reductor se basa en la reducción del Fe⁺³ a Fe⁺² a pH bajo por cualquier sustancia reductora (Gulcin, 2020).

Las actividades iniciales de captación de radicales ABTS^{•+} y DPPH[•], y el Poder Reductor en el puré de banana recién preparado fueron $0,977 \pm 0,68$ $\mu\text{mol Trolox/g}$, $161,08 \pm 3,01$ VCEAC/g y $88,82 \pm 2,14$ mgAAEq/g, respectivamente. Otros autores reportaron valores cercanos de capacidad antioxidante en pulpa de banana como Ribeiro y col. (2017) $0,50 \pm 0,04$ $\mu\text{mol Trolox/g}$, medido con ABTS^{•+}, y Reginio y col. (2020) $67,25 \pm 1,86$ mg VCEAC determinado por DPPH[•].



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.11- Evolución de la capacidad antioxidante total [(A) ABTS•+, (B) DPPH•, (C) Poder reductor] en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.

En las muestras tratadas con UV-C, al inicio de la experiencia, no se registraron cambios significativos en CAO; por otra parte, los tratamientos (US y MO) registraron una disminución significativa en la capacidad antioxidante inmediatamente después de sus aplicaciones (figura III.11). Luego de 10 días de almacenamiento, las muestras de UV-C tuvieron una disminución estadísticamente significativa de CAO, 52% y 60% medido con ABTS^{•+} y DPPH[•], respectivamente, y el Poder Reductor fue 64% menor que los valores iniciales. Se ha demostrado que la exposición a la radiación UV-C causa oxidación en varios jugos y purés de frutas y verduras. Por ejemplo, Krishna Teja y col. (2017) hallaron que tras la exposición a la radiación UV-C, el contenido total de fenólicos y vitamina C del jugo de manzana disminuyó considerablemente. La actividad antioxidante del jugo de manzana tratado con UV fue menor que la de la muestra de control, observando una tendencia decreciente al aumentar la dosis. Los autores atribuyen esta disminución a la presencia de componentes antioxidantes fotosensibles, como el ácido ascórbico, los carotenoides y los fenoles. La misma tendencia a disminuir observaron en el jugo de ananá (Krishna Teja y col., 2017).

Allothman y col. (2009) reportaron un aumento en la inhibición de DPPH[•] en pulpa de banana irradiadas con UV-C durante 30 min a dosis de 2,15 kJ/m². Además, Rivera-Pastrana y col. (2014) aplicaron luz UV-C a 1,48 kJ/m² durante 3 min en pulpa de papaya y encontraron que este tratamiento aumentó significativamente la actividad antioxidante determinada con ABTS^{•+} en un rango de 51-84%, pero no se registró un efecto sobre la actividad antioxidante determinado con DPPH[•]. Estos resultados evidencian la importancia del potencial efecto beneficioso del tratamiento con UV-C bajo ciertas condiciones específicas.

III.2.5. Análisis microbiológico

La calidad microbiológica de los productos procesados es un aspecto relevante para la comercialización de los mismos. Para productos procesados la legislación

europea sugiere como máximo un recuento 10^7 UFC/g de tejido fresco (7 log) para aerobios totales (González-Cebrino y col., 2016) o menor a 10^6 UFC/g según Angelidis y col. (2006).

Tabla III.6- Análisis microbiológico en puré de bananas control y tratadas con luz UV-C, US y MO, almacenadas a 4 °C.

Día	Muestras	Mesófilos totales (log UFC/g)	Mohos y levaduras (log UFC/g)
0	Control	$2,89 \pm 0,49$ A, a	$1,24 \pm 0,09$ A, a
	US	$2,89 \pm 0,49$ A, a	MLD B, a
	MO	$2,89 \pm 0,49$ A, a	MLD B, a
	UV-C	MLD C, a	MLD B, a
10	Control	$4,39 \pm 0,44$ A, b	$1,28 \pm 0,03$ A, a
	US	$3,45 \pm 0,49$ A, a	MLD B, a
	MO	$4,6 \pm 0,99$ A, a	MLD B, a
	UV-C	$1,3 \pm 0,01$ B, b	$0,65 \pm 0,10$ C, b
20	Control	$4,45 \pm 0,49$ A, b	$1,3 \pm 0,01$ A, a
	US	$4,22 \pm 0,37$ A, ab	$0,92 \pm 0,65$ A, b
	MO	$5,00 \pm 1,41$ A, a	$1,3 \pm 0,01$ A, b
	UV-C	$1,48 \pm 0,01$ B, c	$1,04 \pm 0,74$ A, b

MLD=Menor a los límites de detección

ABCD Para tratamientos diferentes en una misma columna, valores con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p < 0,05$)

abcd Para un mismo tratamiento aplicado, valores con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

Los resultados de los tratamientos UV-C, US y MO sobre el recuento de mesófilos totales y, mohos y levaduras en purés de banana durante 20 días de almacenamiento refrigerado se muestra en la tabla III.6.

La radiación UV-C actúa directamente sobre el material genético y la membrana celular de los microorganismos, dado que sus componentes absorben energía en ese rango espectral. Otto y col. (2011) mencionan que la eficiencia de la luz UV aumenta cuando se disminuye la distancia a la fuente de radiación o cuando la profundidad de penetración en el producto es mayor, como en líquidos transparentes.

El tratamiento con UV-C disminuyó 2,89 log UFC/g el recuento de microorganismos en comparación a las muestras control. Reducciones en este rango coinciden con otros estudios, que han demostrado el efecto germicida de la luz UV-C en diferentes vegetales (Gómez y col., 2010; Bermúdez -Aguirre y Barbosa-Cánovas, 2013; Birmpa y col., 2013; Silva, 2014; Kaya y col., 2015; Chen y col., 2016). El puré de banana tratado con UV-C no experimentó un aumento considerable en el recuento de microorganismos mesófilos totales durante el almacenamiento, alcanzando $1,48 \pm 0,01$ log UFC/g al día 20.

A pesar de que la luz UV tiene el potencial de acelerar el pardeamiento enzimático al estimular enzimas del metabolismo de (poli)fenoles, su eficacia en la reducción de la carga microbiana es notable. Por ello, se sugiere su uso en conjunto con otros tratamientos, ofreciendo a la industria de alimentos procesados una estrategia para prevenir tanto el cambio de color no deseado como el crecimiento microbiano.

El puré de bananas tratado con US no mostró diferencias significativas en el número de microorganismos mesófilos totales en comparación con el puré control durante el almacenamiento. En cambio, Birmpa y col. (2013) encontraron una reducción significativa en el número de microorganismos cuando trabajan con una frecuencia de operación del baño de ultrasonidos de 37 kHz y una potencia de hasta 30 W durante 45 min, en frutillas recién cortadas. Estas diferencias podrían deberse a la viscosidad de la matriz que influyen en la eficiencia de la transducción del ultrasonido.

En las muestras tratadas con MO los recuentos permanecieron sin cambios significativos durante el almacenamiento ($p > 0,05$). Resultados semejantes a los reportados por Klug y col. (2018) en salsa de semillas de frijol tratada con MO a 1100 W durante 30 s. Las MO han sido ampliamente investigadas como una posible fuente de energía alternativa para la esterilización y descontaminación. Sin embargo, aún existe controversia respecto a su efecto bactericida. Algunos investigadores postulan que las

MO tienen un efecto bactericida no térmico, mientras que otros se contraponen. Actualmente, se acepta la existencia de estos efectos no térmicos, pero su naturaleza aún debe determinarse (Kernou y col., 2022).

La aplicación de tecnologías emergentes (US, MO, UV-C) demostró ser efectiva para controlar el crecimiento de mohos y levaduras, reduciendo estos microorganismos potencialmente dañinos en el puré de banana recién procesado (tabla III.6). El puré tratado con UV-C presentó un recuento de $1,04 \pm 0,74$ log UFC/g para mohos y levaduras al día 20 de almacenamiento. Además, durante los primeros 10 días de almacenamiento, se detectó un crecimiento de $0,65 \pm 0,10$ log UFC/g de estos microorganismos lo que evidenció su efectividad sobre el control de estos microorganismos.

Tradicionalmente, los tratamientos térmicos han sido los métodos más empleados para la inactivación de enzimas y microorganismos que inducen el deterioro en el puré de banana (Guerrero, 1993). No obstante, la aplicación de estas técnicas, si bien prolonga la vida útil del producto, puede comprometer su calidad nutricional y sensorial. Esta circunstancia ha impulsado la investigación de nuevas metodologías de conservación para puré de banana, particularmente en productos con elevada concentración de compuestos termosensibles, tales como antioxidantes y vitaminas. El objetivo primordial es sustituir las técnicas convencionales por metodologías innovadoras que preserven al máximo las características nutricionales y sensoriales de los alimentos, respondiendo así a las preferencias de los consumidores actuales, quienes demandan productos nutritivos, funcionales y de fácil preparación.

En la actualidad, existen pocos estudios sobre la aplicación de UV-C en pulpa de banana, principalmente se ha estado utilizando para controlar el daño por frío en la fruta (Pongprasert y col., 2011) y como agente germicida en agua y jugos de distintas frutas. Bokhari y col. (2013) lograron prevenir la infección fúngica en bananas cortadas con la

aplicación de UV-C (sin especificar la dosis) durante 45 min. Noci y col. (2008) también informaron que la radiación UV-C con 30 min de exposición en jugo de manzanas fue efectiva en la reducción de 2,2 log de la carga microbiana.

Los tratamientos de US y MO también fueron efectivos para inhibir el crecimiento de mohos y levaduras hasta el día 10 de almacenamiento refrigerado. Abid y col. (2014) lograron una inactivación microbiana en jugo de manzana tratado con baño de US durante 30 min, aunque no fue estadísticamente significativa, el cual aducen a la baja temperatura del tratamiento. Por lo que proponen, además, combinarlo con temperaturas elevadas (termosonicación) para una mayor eficiencia, ya que el US aumenta la sensibilidad microbiana al calor obteniéndose una mayor reducción microbiana. Tomadoni y col. (2017), por su parte estudiaron tratamientos de US en jugo de frutilla (40 kHz y 180 W) y no encontraron un efecto inicial significativo en mohos y levaduras, aunque lograron mantenerse por debajo del límite máximo permitido de microorganismos.

Respecto del tratamiento con MO, existen muchos estudios que apoyan la efectividad en la reducción de microorganismos. Picouet y col. (2009) evaluaron los efectos de la aplicación de MO en muestras de puré de manzanas a 75 °C por 35 s y encontraron que la estabilidad del puré se mantuvo durante el almacenamiento a 5 °C, con un ligero aumento el día 14 y un recuento final de mesófilos totales de 2,16 log UFC/g. Marszałek y col. (2015), por su parte, trabajaron con puré de frutilla conservado con procesamiento continuo de MO y los recuentos microbianos permanecieron < 1 log para los recuentos de moho y levadura hasta el final del almacenamiento.

Aunque existen investigaciones sobre la aplicación de tecnologías emergentes en el procesamiento de frutas, aún se requieren estudios adicionales para optimizar su aplicación y hacerlo más eficiente para su transferencia a escala industrial.

III.2.6. Conclusiones parciales

El parámetro de color luminosidad (L^*) del puré tratado con US y MO mostró incrementos respecto del control, aunque siguió una tendencia descendente durante el almacenamiento. A su vez, el parámetro b^* fue más sensible a la aparición del pardeamiento, evidenciándose en mayor medida en las muestras tratadas con UV-C. Esto indica que el parámetro b^* podría seleccionarse como indicador de los cambios de color asociados al pardeamiento en puré de bananas ya que el parámetro a^* no fue sensible a los cambios. Asimismo, los valores calculados del Chroma e IP evidenciaron los cambios de color detectados. Tanto en las muestras tratadas con MO como con US, tuvieron colores superficiales sensorialmente aceptables.

Los tratamientos de US y MO provocaron disminuciones en la actividad de la PPO y contenido de fenoles a diferencia de las muestras irradiadas con UV-C que tuvieron mayores valores respecto del control. Sin embargo, sólo en el puré tratado con luz UV-C la enzima POD mostró una menor actividad a lo largo del almacenamiento. Por otra parte, la CAO disminuyó a lo largo del almacenamiento.

Los purés tratados con US y MO presentaron una evolución de la carga microbiológica similar al puré sin tratamiento, en tanto que la radiación UV-C fue efectiva reduciendo su desarrollo durante el almacenamiento. Sin embargo, los tratamientos de US, MO y radiación UV-C tuvieron un notable efecto controlando el crecimiento de mohos y levaduras, especialmente en los primeros 10 días de almacenamiento.

III.3. Tratamientos químicos

III.3.1. Ensayos preliminares

Selección de agentes químicos

Se realizó un ensayo preliminar para seleccionar los agentes químicos capaces de controlar el pardeamiento enzimático en el puré de bananas, teniendo en cuenta los cambios sensoriales que generan el empleo de cada uno de los compuestos considerados.

Para ello se utilizó un panel de evaluadores semi-entrenado, conformado por 8 personas. Durante el reclutamiento fueron seleccionadas en base a su afinidad con el producto.

En esta etapa preliminar se analizó solo el atributo apariencia, y para ello el puré fue preparado en una licuadora doméstica y fue fraccionado según se describió en el capítulo de Materiales y Métodos, antes de ser mezclado con los agentes químicos. Se aplicaron ácido ascórbico, ácido cítrico, EDTA, pepsina, papaína, ácido málico y L-cisteína todos en una concentración del 2 %.

Los evaluadores recibieron los recipientes con los purés de bananas tratados y se observó el grado de pardeamiento teniendo en cuenta la presencia de zonas oscuras o amarronadas. Este atributo fue cuantificado por observación visual utilizando una escala con puntajes entre 0 y 5, donde el valor 0 se correspondía con poco color amarillo y/o con presencia de pardeamiento intenso y 5 a un color amarillo sin pardeamiento. La prueba se realizó en un salón acondicionado con luz uniforme para evitar su influencia en la apariencia del producto. Los evaluadores se ubicaron en mesas individuales y separadas para evitar la comunicación entre ellos.

El punto de corte definido para los atributos fue un puntaje ≥ 3 , por encima del cual el producto se considera satisfactorio y por debajo del mismo se considera no conforme, basados en los criterios previamente definidos. Las experiencias se realizaron por duplicado.

En la fig. III.12 se puede visualizar la apariencia de los purés tratados con los agentes químicos y los resultados de las evaluaciones realizadas se resumen en la tabla III.7. El panel de evaluadores otorgó los puntajes más bajos ($p < 0,0001$) a las muestras tratadas con L-cisteína, papaína, pepsina y ácido málico. Mientras que las muestras tratadas con ácido ascórbico, ácido cítrico y EDTA fueron calificadas con puntajes superiores a 4, lo cual indica que no se detectaron o visualizaron signos de pardeamiento en ninguno de los casos.



Figura III.12- Evaluación preliminar con diferentes agentes antipardeantes

Tabla III.7- Resultados para el atributo grado de pardeamiento de purés de bananas tratadas con diferentes agentes químicos.

Tratamiento	Puntaje
Ácido ascórbico	5 ± 0,01 ^A
Ácido cítrico	5 ± 0,01 ^A
Ácido málico	2,67 ± 0,58 ^{BC}
Pepsina	2,67 ± 0,58 ^{BC}
Papaína	2,33 ± 0,58 ^C
EDTA	4,33 ± 1,15 ^{AB}
L-cisteína	1,67 ± 0,58 ^C

^{ABC} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

III.3.2. Aplicación de agentes químicos antipardeantes

Almacenamiento refrigerado

Una vez seleccionadas las condiciones de tratamiento con los agentes antipardeantes, se efectuaron las experiencias para determinar el efecto de cada agente químico sobre el desarrollo del pardeamiento enzimático. Para ello se determinó el IP al final del período de almacenamiento de 20 días a temperatura de refrigeración a 4 °C para cada una de las condiciones seleccionadas.

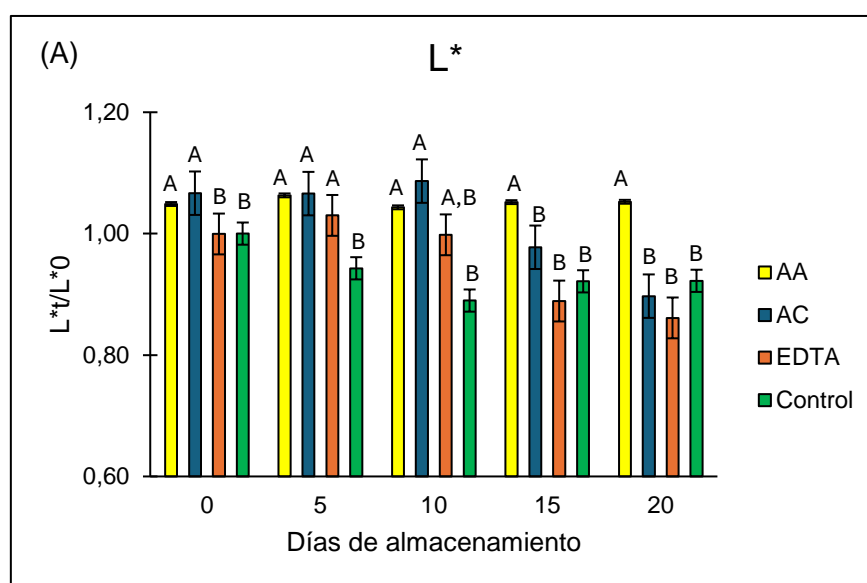
Como se describió en el capítulo II “Materiales y Métodos”, las bananas fueron procesadas fraccionadas en diferentes envases y mezcladas en forma individual con ácido ascórbico, ácido cítrico y EDTA. Así mismo, se efectuó el almacenamiento a 4 °C de las muestras control sin tratamiento.

III.3.3. Evaluación del pardeamiento

En la figura III.13 se presentan los resultados de los parámetros colorimétricos (L^* , a^* y b^*) expresados como cociente entre el valor medido en un tiempo determinado y el valor de la muestra control a tiempo 0.

Al inicio del almacenamiento, en las muestras control se observaron las apariciones de manchas pardas, evidenciadas además por la consecuente pérdida de

luminosidad de alrededor de 3%, con un valor de $L^* = 77,52 \pm 0,39$. Al día 5 del almacenamiento en la muestra control, la disminución de L^* a un valor de $76,19 \pm 0,98$ fue significativa ($p = 0,0009$). El valor de L^* mostró una disminución continua durante el almacenamiento indicando la pérdida de brillo y el oscurecimiento del producto. A los 20 días L^* descendió un $13,35 \pm 0,80 \%$.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.13 (A)- Evolución del parámetro colorimétricos L^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

Por su parte, las muestras tratadas con AA, no presentaron variaciones significativas del parámetro L^* durante el almacenamiento refrigerado, manteniendo la luminosidad desde el inicio y hasta los 20 días del almacenamiento, cuando alcanzó un valor de $80,22 \pm 1,16$, con escasa aparición del color pardo. Además, merece ser resaltado que los valores del parámetro L^* fueron superiores a los encontrados en muestras control ($p < 0,0001$) a lo largo del almacenamiento. Estas diferencias obtenidas en la luminosidad serían resultado de la inhibición de la enzima evitando la formación de quinonas (Oms-Oliu y col., 2010). Otra teoría también asegura que el AA y la disminución del pH actúan como protectores de la estabilidad molecular de ciertos

pigmentos en los vegetales (Hacısevkd, 2009). De manera similar, Guessan y col. (2018) observaron una menor disminución de L^* en puré de plátano tratados con AA+AC (50:50) iniciando con un valor promedio de $54,7 \pm 0,1$ y alcanzando $45,6 \pm 0,1$ a las 24 h, en tanto que el control disminuyó hasta valores de $24,7 \pm 0,8$. Este autor propone que la concentración de AA debe ser relativamente alta para una mayor efectividad o combinarlo con otro agente antipardeante, ya que a dosis bajas fue consumido rápidamente y solo retrasaron el pardeamiento, pero no lo evitó completamente. En contraste, Rodríguez Arzuaga y col. (2013) obtuvieron valores más bajos de L^* respecto su control en pulpas de manzanas tratadas con AA y AC, lo que señala que la sensibilidad de los parámetros colorimétricos a los tratamientos, dependen en gran medida a la matriz vegetal y a su composición (Piagentini y col., 2012).

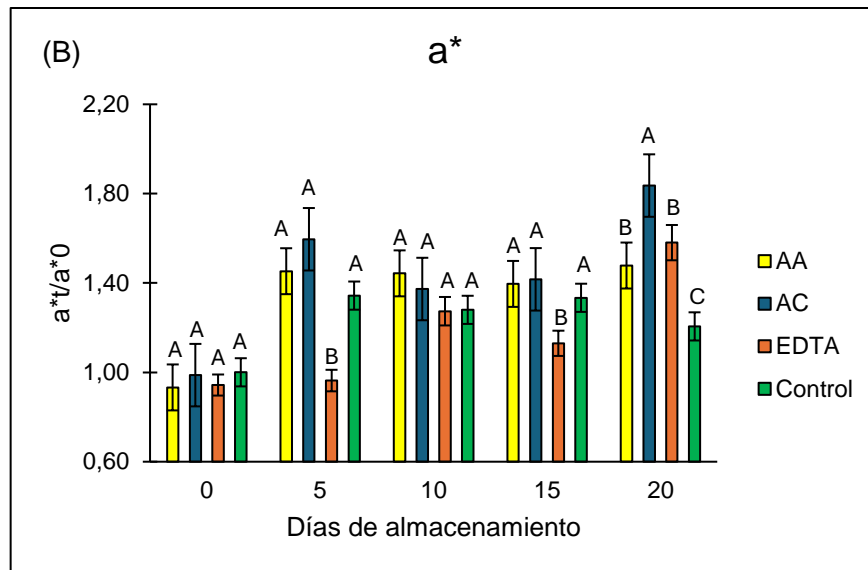
Las muestras de puré tratadas con AC mostraron valores superiores del parámetro L^* ($p = 0,0009$) a las de las muestras control, hasta el día 10 del almacenamiento alcanzando una diferencia de $8,65 \% \pm 1,14$ (figura III.13-A). Esto puede deberse al efecto de la reducción del pH (≤ 4) del AC que inhibiría el pardeamiento enzimático o, según Tsouvaltzis, y Brecht (2016) el AC se une con sustratos fenólicos o con la enzima PPO formando complejos, evitando la formación de pigmentos pardos lo que mantiene los valores elevados del parámetro L^* . Sin embargo, hacia el final del almacenamiento este parámetro disminuyó progresivamente desde el día 15, alcanzando valores similares a los encontrados en las muestras control al día 20.

El tratamiento con EDTA mostró una tendencia a disminuir el parámetro L^* en el puré de banana, a lo largo de la experiencia. En el día 20 presentó el valor más bajo ($p < 0,0001$) en comparación con el control, alcanzando un valor de $L^* = 69,52 \pm 0,15$. Probablemente el EDTA tenga un efecto reducido en la inhibición de la enzima PPO, lo que permitiría la formación de pigmentos pardos y disminuyendo la luminosidad. En estudios de caracterización de la enzima PPO y su acción frente a 10 agentes inhibidores, se demostró que el EDTA y el tratamiento con el cloruro de sodio fueron los

de menor efectividad como inhibidores enzimáticos (Palma, 2010). Además, establecieron que este compuesto quelante tiene menos especificidad con el cobre, grupo prostético de la enzima PPO.

El parámetro a^* en la muestra control aumentó significativamente ($p = 0,0210$) en un $60,49 \pm 6,69$ % al día 5 del almacenamiento (figura III.13-B), manteniéndose sin variaciones estadísticamente significativas hasta el día 20, finalizando con un valor de $a^* = 2,95 \pm 0,56$.

El parámetro a^* representa la intensidad del color rojo o del verde, y no son habitualmente elegidos para seguir los cambios de color en matrices blancas o amarillas. Dussán-Sarria y col. (2020) determinaron solo los valores L^* y Chroma* en pulpa de ananá, Xu y col. (2022) usaron L^* y ΔE en papas cortadas; y Ribeiro y col. (2019) sugirieron que en pulpas de bananas el parámetro a^* no sufre modificaciones a diferencia de lo observado en los parámetros L^* y b^* . Los resultados de este trabajo de tesis muestran que los tratamientos químicos utilizados tuvieron efectos significativos en el parámetro a^* , a diferencia de los comportamientos observados en los purés tratados físicamente. Una de las explicaciones a lo observado anteriormente es la ocurrencia de interacciones entre los agentes antipardeantes y las enzimas oxidantes o sobre los pigmentos influyendo en el parámetro a^* . Se determinó un aumento de a^* en simultáneo con el aumento del pardeamiento del puré.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.13 (B)- Evolución del parámetro colorimétricos a^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

También las muestras tratadas con AA presentaron aumentos significativos ($p < 0,0001$) del parámetro a^* . El valor inicial fue de $1,71 \pm 0,05$ y se incrementó un $45,29 \pm 2,21$ % (figura III.13-B), manteniéndose sin cambios significativos hasta finalizar las experiencias al día 20 del almacenamiento refrigerado. Resultados más acentuados fueron reportados por Milani y col. (2020) que registraron una disminución de los valores del parámetro a^* en chips de bananas tratadas con AA 0,10 % ($a^* = -2.82 \pm 0.05$) comparadas con el control ($a^* = 0,072 \pm 0,03$). Guessan y col. (2018) informaron que, en el puré de plátanos tratados con AA combinado con AC, el parámetro a^* se mantuvo entre -2,5 y -0,9, lo que indica menos degradación del color, mientras que en el control a^* disminuyó hasta -5,3, lo cual es una señal de degradación del color. Por el contrario, Yildiz (2019) informaron que en muestras de pulpa de papas tratadas con AA 3%, valores bajos del parámetro a^* fueron medidos en el día 0 del almacenamiento ($-0,3 \pm 0,4$), pero luego aumentaron gradualmente a valores positivos en el día 14 ($1,3 \pm 0,7$).

Respecto de las muestras tratadas con AC, se registró un valor de $a^* = 2,26 \pm 0,06$ al inicio del almacenamiento refrigerado y tuvo incrementos significativos a lo largo del

almacenamiento ($p < 0,0001$). A los 5 días aumentó un $59,59 \% \pm 1,49$ (Figura III.13-B) y al día 20 aumentó un $83,62 \% \pm 3,57$ respecto del valor inicial. Ali y col. (2013), afirman que el principal mecanismo de acción de este ácido orgánico es como inhibidor no competitivo de la enzima oxidante y no como reductor.

En cuanto a las muestras tratadas con EDTA los valores de a^* se mantuvieron bajos en el inicio, donde se encontró un $5,67 \pm 0,58 \%$ menos que el control y en el día 5 del almacenamiento fue un $3,67 \pm 7,10 \%$ más bajo. Se pudo ver un efecto más acentuado durante estos días de almacenamiento, posiblemente debido a que aumenta la solubilidad del jugo exudado en el puré por durante el almacenamiento dentro del mismo envase (Dussán-Sarria y col., 2020), facilitando su acción sobre los iones metálicos de las enzimas. Posteriormente, en el día 20 del almacenamiento refrigerado las muestras tratadas con EDTA aumentaron significativamente el parámetro a^* en un $58,07 \pm 0,97 \%$.

El parámetro b^* determinado al inicio del almacenamiento refrigerado para las muestras control fue de $24,82 \pm 1,39$ y posteriormente aumentó ($p < 0,0001$) entre 33 y 35 % (figura III.13-C) durante la experiencia, registrando un valor de $b^* = 33,55 \pm 1,43$ en el día 20 del almacenamiento, coincidente con la evolución del pardeamiento en las muestras. Estudios realizados sobre el pardeamiento enzimático en bananas (Yildiz, 2018; Wang y col., (2014) también reportaron que el pardeamiento enzimático es acompañado por un incremento en los parámetros colorimétricos a^* y b^* , y una disminución de la luminosidad (L^*).

De manera inversa a lo que ocurrió con el parámetro a^* en las muestras tratadas con AA se registró una reducción significativa ($p = 0,0008$) en el parámetro b^* en comparación con la muestra control, ya al inicio de la experiencia registraron un valor de $21,27 \pm 0,29$, representando un 74 % más bajo (figura III.13-C), el cual se mantuvo a lo largo del almacenamiento refrigerado, registrándose un valor final de $b^* = 31,71 \pm$

0,79. La disminución de los valores del parámetro b^* se asocia con la retraso del pardeamiento enzimático, probablemente debido al efecto reductor del AA sobre las quinonas, lo que evita la formación de pigmentos. Resultados similares fueron también informados por Wang y col. (2014) en batidos de bananas tratadas con AA 0,2% manteniendo valores bajos del parámetro b^* ($12,97 \pm 0,27$) en comparación con las muestras no tratadas.

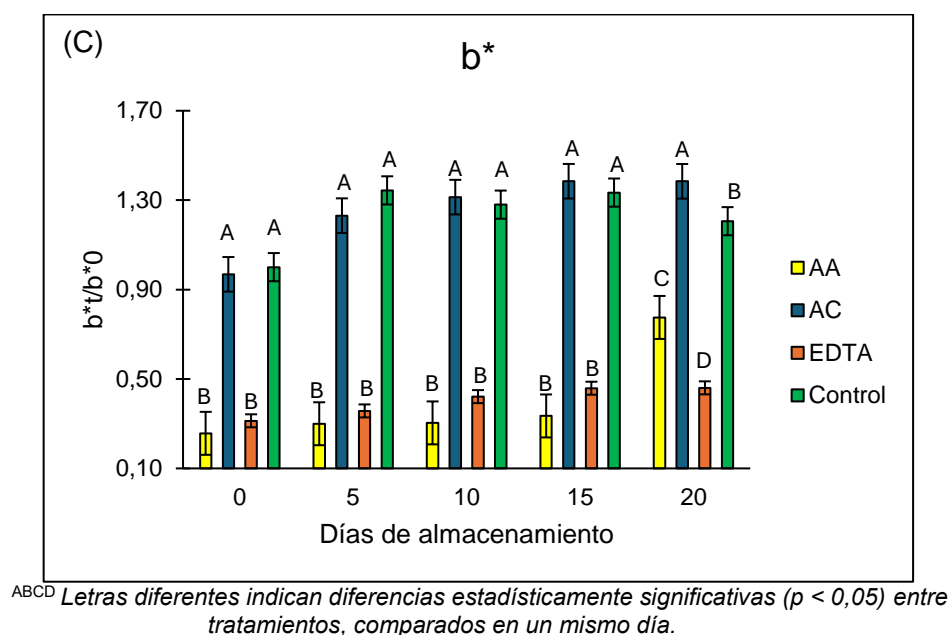
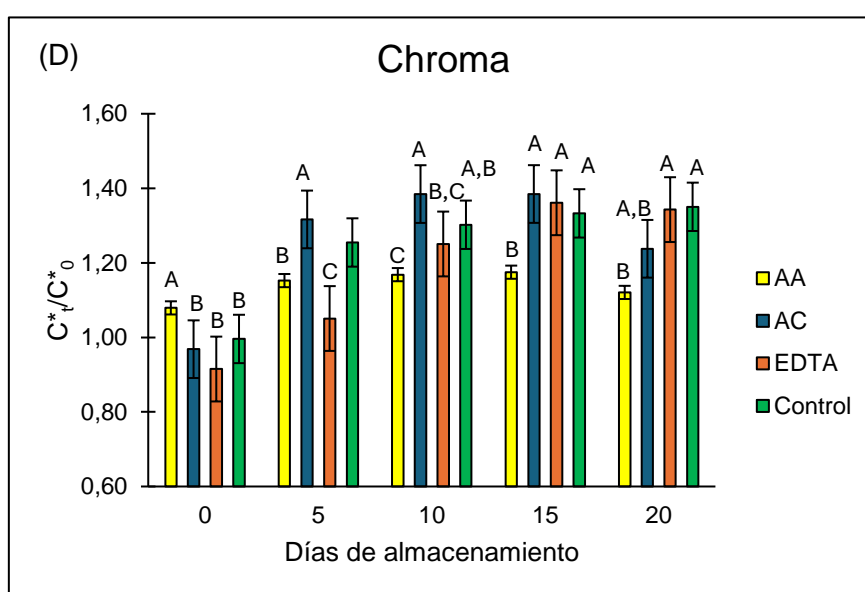


Figura III.13 (C)- Evolución del parámetro colorimétrico b^* en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

En las muestras tratadas con AC no se encontraron diferencias significativas respecto del parámetro b^* en comparación con el control, presentando similares valores durante la mayor parte del periodo de almacenamiento refrigerado. Analizando estos resultados se podría afirmar que el AC no tuvo un efecto relevante sobre el desarrollo de los pigmentos pardos. Coincidiendo con estos resultados, Yildiz (2018) halló en pulpa de bananas tratadas con AC 1% aumentos significativos del parámetro b^* al séptimo día del almacenamiento.

También se observó, en las muestras tratadas con EDTA, valores significativamente ($p < 0,0001$) inferiores al control del parámetro b^* en todos los tiempos medidos del periodo de almacenamiento, especialmente en el inicio donde se registró una diferencia de $68,71 \pm 2,10$ %. En las condiciones de almacenamiento a 4°C se mantuvieron notoriamente constantes los valores del parámetro b^* , siendo el EDTA uno de los antipardeantes que preservó de mejor manera el color amarillo (b^*).



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.13 (D)- Evolución del parámetro colorimétrico Chroma (C^*) en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4°C .

Respecto del parámetro C^* (figura III.13-D) calculado a partir de a^* y b^* , se observó que el puré tratado con AA fue significativamente ($p=0,0001$) mayor en un 8 % en relación con control con un valor de $30,64 \pm 0,50$. Luego aumentó gradualmente hacia el final del almacenamiento, pero manteniéndose en valores muy por debajo que el control. Las muestras tratadas con AC y EDTA aumentaron progresivamente al igual que la muestra control. Estos aumentos indican un color más saturado e intenso.

En relación con el tono (h°), el tratamiento con AA presentó diferencias significativas ($p < 0,0001$) en comparación con las demás muestras, mostrando valores más elevados durante todo el periodo de almacenamiento (tabla III.8). Los valores estuvieron en un rango de $86,81 \pm 0,09^\circ$ al inicio y de $85,12 \pm 0,12^\circ$ en el día 20. En comparación, Sarpong y col. (2018) evaluaron el efecto acidulante del AA en relación con la humedad relativa para el tratamiento en pulpa de bananas y reportaron que los valores para el tono aumentaron significativamente de $76,98 \pm 5,24$ en la banana fresca a $83,10 \pm 0,98$ en la banana tratada con AA 1,5 %.

Tabla III.8- Evolución del parámetro hue (h°) en puré de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C

A,B,C,D Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos

Tiempo (Días)	Control	AA	AC	EDTA
0	$85,46 \pm 0,70^{A,B}$	$86,81 \pm 0,09^A$	$84,33 \pm 0,14^B$	$80,39 \pm 0,29^C$
5	$85,04 \pm 0,56^{A,B}$	$85,34 \pm 0,10^A$	$83,26 \pm 0,06^B$	$83,82 \pm 0,08^{A,B}$
10	$83,95 \pm 0,53^{A,B}$	$85,43 \pm 0,01^A$	$84,49 \pm 0,15^B$	$81,28 \pm 0,13^C$
15	$84,75 \pm 1,42^{A,B}$	$85,61 \pm 0,04^A$	$84,31 \pm 0,13^B$	$85,13 \pm 0,39^{A,B}$
20	$85,46 \pm 0,27^A$	$85,12 \pm 0,12^A$	$81,74 \pm 0,07^C$	$84,21 \pm 0,03^B$

Resulta fundamental destacar que los parámetros analizados evidencian la superior efectividad del ácido ascórbico (AA) en la preservación del color del puré de banana. Se observó que este tratamiento mantuvo la luminosidad (L^*), la intensidad del color amarillo (a^*) y un tono (h°) notablemente constante, lo que se tradujo en un color más uniforme y estable (figura III.14).

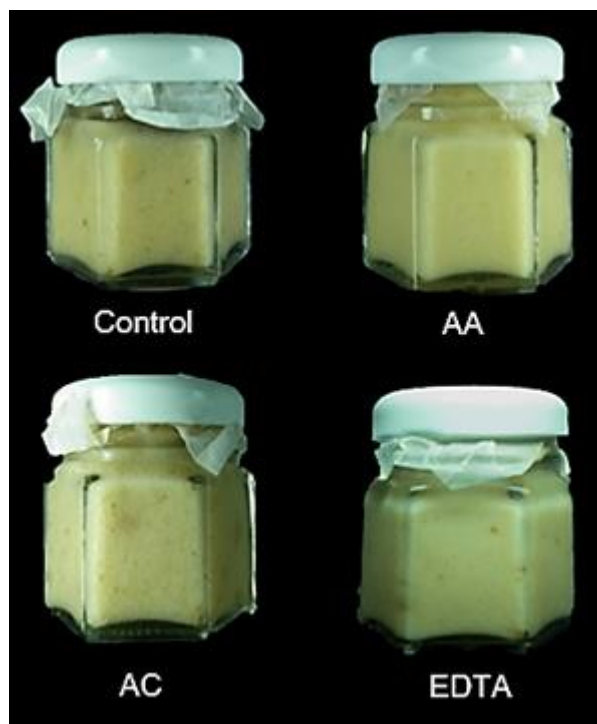


Figura III.14- Comparación del color superficial de los purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, en el día 20 del almacenamiento a 4 °C.

El IP se define como la pureza del color marrón y es uno de los indicadores más utilizados en el estudio del pardeamiento en productos alimenticios (Buera y col., 1986) y ha demostrado ser uno de los parámetros más sensibles en el estudio de las bananas procesadas.

En la figura III.15 se observa la evolución del IP, en donde se puede apreciar un aumento significativo ($p < 0,0001$) durante el almacenamiento en las muestras control pasando de un valor inicial de $IP = 38,63 \pm 1,68$ a un valor final de $IP = 58,76 \pm 1,61$ en el día 20 del almacenamiento. Estas diferencias de color observadas responderían principalmente al aumento del oscurecimiento o pardeamiento por pérdida de luminosidad (L^*) y el aumento en los valores del parámetro b^* simultáneamente en la superficie del puré.

En las muestras tratadas con AA, al inicio del almacenamiento, el parámetro IP registró un valor de $31,13 \pm 0,64$ mostrando diferencias significativas ($p < 0,0001$)

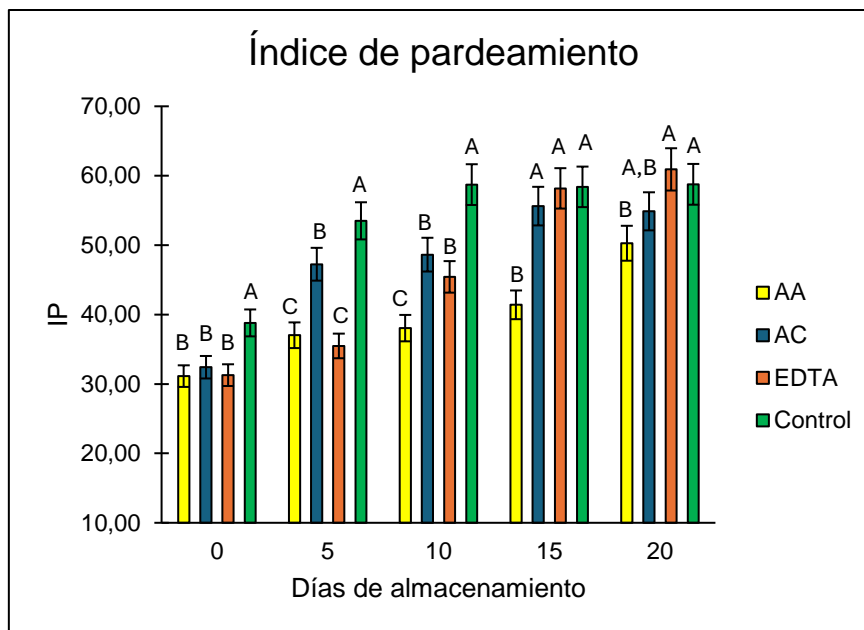
respecto de las bananas recién procesadas desde el inicio del experimento. Posteriormente fue incrementándose gradualmente, en un rango de $37,02 \pm 0,79$ en el día 5 a $50,27 \pm 1,17$ en el día 20 (figura III.15), valores significativamente inferiores ($p < 0,0001$) a la muestra control. Estas diferencias se deberían al efecto reductor del AA sobre quinonas (Ali y col. 2013), dado que no se observaron signos de pardeamiento evidentes.

Las muestras AC tuvieron un valor de IP inicial de $32,41 \pm 0,16$, significativamente más bajo que el control ($p = 0,0081$). Luego registró incrementos del $35 \pm 0,65\%$ al día 5 con valores inferiores al control ($p < 0,0001$), y al día 15 un aumento del 75% alcanzando valores iguales al control (figura III.15).

El IP en las muestras tratadas con AA y AC mostró tendencias similares durante el almacenamiento. No obstante, el IP fue consistentemente superior en las muestras AC, aunque ambos valores fueron inferiores a los de las muestras control, especialmente durante las dos primeras semanas de almacenamiento.

El puré tratado con EDTA tuvo valores de IP significativamente inferiores ($p < 0,0001$), iniciando con $IP = 31,27 \pm 0,97$ y aumentando gradualmente. De manera similar a los purés tratados con AC, los valores de IP en las muestras tratadas con AA fueron inferiores a los de las muestras control hasta el décimo día de almacenamiento (Figura III.15). Sin embargo, posteriormente, se observó un incremento en los valores de IP, alcanzando niveles que no difirieron significativamente de los controles.

Wang y col. (2014) obtuvieron resultados similares en batidos de bananas tratados con AA y AC, evidenciándose un importante efecto antipardeante determinado por la disminución del IP.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.15- Evolución del IP en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

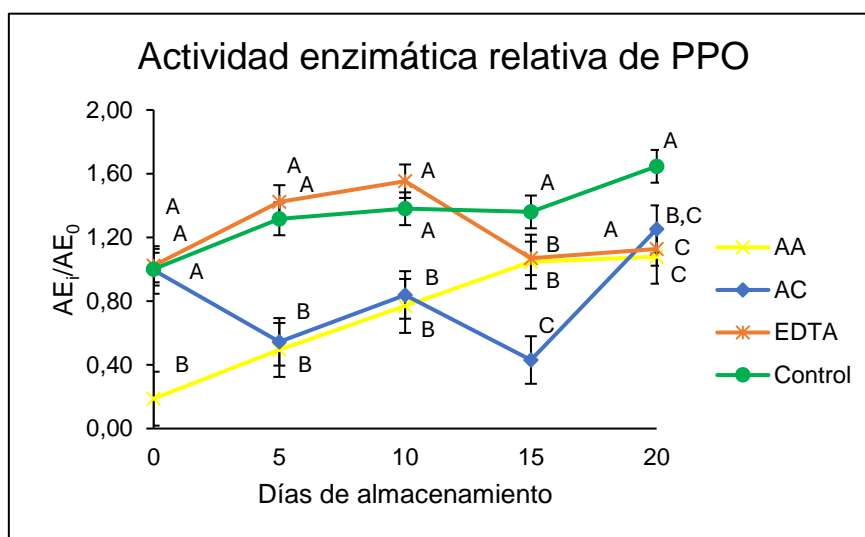
Para una evaluación más completa de la efectividad de los diferentes agentes antipardeantes, algunos autores sugieren contrastar las variaciones en los parámetros colorimétricos con la actividad enzimática ya que, en algunos casos como el AC actúan principalmente como inhibidor de la enzima PPO (Ali y col., 2015).

III.3.4. Actividad enzimática

Como se mencionó anteriormente, el rol de las enzimas PPO y POD en la oxidación de sustratos fenólicos es un factor importante pero no determinante para el desarrollo de pardeamiento. Sin embargo, una elevada actividad de estas enzimas, combinada con un elevado contenido de compuestos fenólicos, aumenta la probabilidad de desarrollo del pardeamiento enzimático en el tejido como respuesta al daño (Jiang y col., 2016; Singh y col., 2018). Por tal motivo, se estudió el efecto de los agentes antipardeantes en el puré de bananas las actividades de las principales enzimas involucradas.

El efecto que pueden tener los ácidos orgánicos como el ascórbico y cítrico sobre el fenómeno de pardeamiento enzimático se atribuye a una triple función: actuar como acidulante disminuyendo el pH, como agente quelante acomplejándose con el catión cobre del grupo prostético de la PPO, o en la reducción de los intermediarios y los productos de la reacción enzimática (Tsouvaltzis y Brecht, 2016; Zhou y col., 2016). Sin embargo, se desconoce cuál de estos roles tiene el efecto predominante. La eficacia de un agente antipardeante dependerá de la concentración y el pH (Kasnak, 2020).

En la figura III.16 se presentan los resultados de la actividad enzimática de PPO calculadas como cociente entre la actividad enzimática de una muestra en un tiempo determinado y la actividad enzimática a tiempo inicial del control.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.16- Evolución de la actividad enzimática relativa de PPO en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

En los ensayos de almacenamiento refrigerado realizados, se encontró que las muestras de puré control tuvieron un aumento progresivo en la actividad de la enzima PPO, iniciando con un valor promedio de $1,52 \pm 0,07$ hasta alcanzar un valor de $3,00 \pm 0,12 \Delta\text{UA}_{420}/\text{min}/\text{mg prot}$, a los 20 días de almacenamiento. Tal como se observa en la

figura III.18, dicho aumento representa un 60 % del valor de la actividad inicial. Según Kaewjumpol y col. (2021) dicho incremento podría deberse a que en las primeras horas posteriores al procesado de la banana se originan señales químicas que se propagan en todo el tejido induciendo la síntesis *de novo* de la actividad fenilalanina amonioliasa (PAL), la primera enzima clave que convierte la L-fenilalanina en ácido transcinámico, lo que resulta en la acumulación de compuestos fenólicos. Y más tarde, la enzima PPO oxida los compuestos fenólicos a quinonas que son altamente reactivas y pueden combinarse con otros compuestos para formar pigmentos pardos, y en este punto coincide con el aumento de la actividad de la enzima PPO.

En las muestras tratadas con AC la actividad inicial para la enzima PPO fue de $0,44 \pm 0,06 \Delta\text{UA}_{420}/\text{min}/\text{mg prot}$, disminuyendo posteriormente hasta un valor de $0,19 \pm 0,02$ al día 15 del almacenamiento. Los valores hallados desde el día 5 y a lo largo de la experiencia fueron inferiores ($p=0,0032$) a los encontrados para las muestras control según puede observarse en la figura III.18. Varios estudios han demostrado el efecto acidulante del AC inhibe la actividad de la enzima PPO pero además pueden actuar como inhibidores enzimáticos directos formando complejos con el cobre presente en la enzima. Zou y col. (2023) evaluaron la sinergia del ácido cítrico en puré de bananas como pre-tratamiento a las altas presiones resultando en una inhibición completa de la PPO, que en contraste solo el tratamiento con altas presiones sin acidificación logró solo una reducción parcial. Esta inhibición se atribuye a la reducción del pH a 3,2 aproximadamente, un medio en el que la PPO tiene una actividad significativamente menor, así como a la capacidad del AC para quelar iones metálicos esenciales para la función de la enzima.

Al inicio de los experimentos, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores de actividad de la enzima PPO en las muestras tratadas con AA. Inmediatamente después de la aplicación del tratamiento con AA, la actividad de la enzima disminuyó un 80% (Figura III.16), alcanzando valores de $0,28 \pm 0,05$

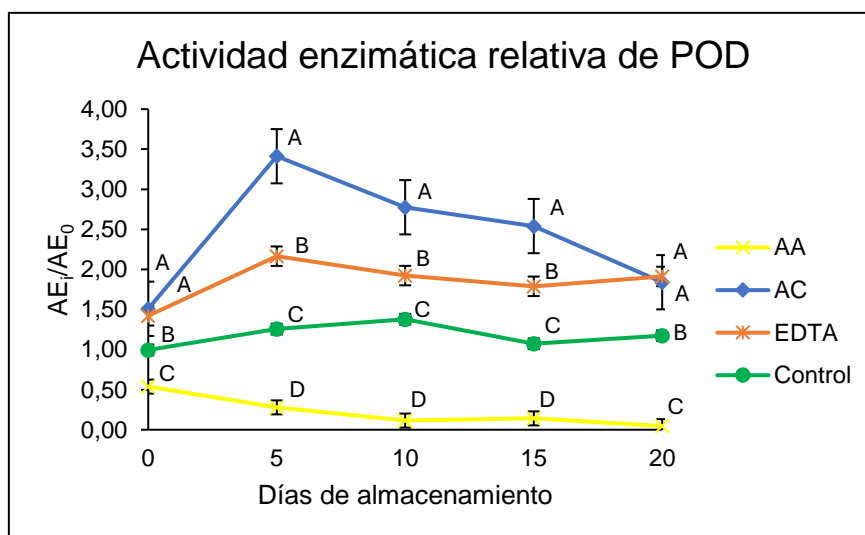
$\Delta U A_{420}/\text{min}/\text{mg prot.}$ Esto evidencia el efecto inhibitorio del AA sobre la enzima PPO, ya que, según lo reportado por Ali y col. (2015), el AA en altas concentraciones ($>1,5\%$) puede reducir instantáneamente la quinona formada a su sustrato fenólico original, mientras que en concentraciones más bajas tiende a actuar como inhibidor competitivo. Posteriormente, durante el almacenamiento, hasta el día 15, se observó un aumento gradual en la actividad de la enzima, aunque esta se mantuvo baja en comparación con la actividad de las muestras control. Hallazgos similares fueron reportados por Yildiz (2018) en pulpas de banana, donde el tratamiento con AA al 1% logró disminuir la actividad de la enzima PPO en un 75%, seguido de un aumento gradual, pero de baja proporción, hasta el día 14 de almacenamiento, sin diferencias significativas con respecto a los controles.

En el caso del tratamiento con EDTA, las muestras no presentaron diferencias significativas en la actividad enzimática de PPO respecto de la muestra control, con un máximo de actividad de $0,56 \pm 0,01 \Delta U A_{420}/\text{min}/\text{mg prot.}$ en el día 10 (figura III.16). Posteriormente en los días 15 y 20 disminuye volviendo al valor inicial de actividad. Sin observarse un efecto inhibitorio relevante, es decir que posee una baja capacidad de inhibición de la actividad de la enzima PPO en puré de bananas.

La enzima POD, también relacionada con el pardeamiento enzimático, es capaz de oxidar los fenoles a quinonas y promover la síntesis de ligninas (Saltveit, 2000; Zhang y col., 2005; Singh y col., 2018).

En los purés de bananas control la actividad de la enzima POD tuvo una actividad de inicial de $1,81 \pm 0,32 \Delta U A_{470}/\text{min}/\text{mg prot.}$, registrando un máximo de actividad al día 10 (figura III.19). La enzima POD tiene la función de eliminar el exceso de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y desencadenar el proceso de pardeamiento enzimático. Y según Kaewjumpol y col. (2021), esta actividad se incrementa de manera significativa durante las 12 horas posteriores al corte en frutas y vegetales.

Por su parte, las muestras tratadas con AC mostraron valores superiores ($p=0,0010$) al control durante toda la experiencia, alcanzando su actividad máxima en el día 5 con un aumento aproximado de 350 % respecto del control, y descendiendo posteriormente ($0,53 \pm 0,02 \Delta U A_{470}/\text{min}/\text{mg prot}$) hacia el día 20 de las experiencias. Con la adición del AC el pH descendió de $5,31 \pm 0,13$ a $4,56 \pm 0,11$, esta disminución de pH podría haber tenido un efecto sinérgico en la actividad de la enzima POD. En estudios previos, se ha demostrado que existe una multiplicidad de formas de isoenzimas para la POD que se han fraccionado y se clasificaron como aniónicas o catiónicas (Nagle y Haard, 1975; MacDonald y Schaschke, 2000; Ebrahim y col., 2016). Estas isoenzimas, catiónicas y aniónicas, presentan diferentes propiedades como pH óptimo, especificidades de sustrato, actividades específicas, K_m y afinidades por los inhibidores. Nagle y Haard (1975) habían reportado que la diferentes fracciones presentan actividad en un amplio rango de pH. La fracción aniónica de la enzima POD exhibió en la gráfica una meseta de actividad máxima entre pH 4,5-5,0, mientras que la fracción catiónica mostró un óptimo a pH 4,5.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.17- Evolución de la actividad enzimática relativa de POD en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

Al igual que lo hallado con la enzima PPO, el AA redujo la actividad de la enzima POD un $46,19 \pm 0,12$ % (figura III.17) al inicio de la experiencia y su actividad fue reduciéndose aún más a medida que avanzaba el tiempo en el periodo de almacenamiento, alcanzando una inhibición aproximada de $95,50 \pm 0,02$ % respecto del control en el inicio del almacenamiento refrigerado.

En las muestras tratadas con EDTA, la actividad de la enzima POD no fue inhibida. Por el contrario, se observó un incremento continuo en su actividad a lo largo del período de almacenamiento. Estos resultados sugieren que el EDTA no es eficaz como inhibidor de la enzima POD. Crumière (2000), al comparar diferentes aditivos para controlar el pardeamiento enzimático en pulpa de manzana, incluyendo el EDTA, no encontró inhibición enzimática. Adicionalmente, sugirió que este compuesto debe utilizarse en concentraciones iguales o superiores al 0,18%, o en combinación con otros agentes antipardeantes.

III.3.5. Fenoles totales y capacidad antioxidante

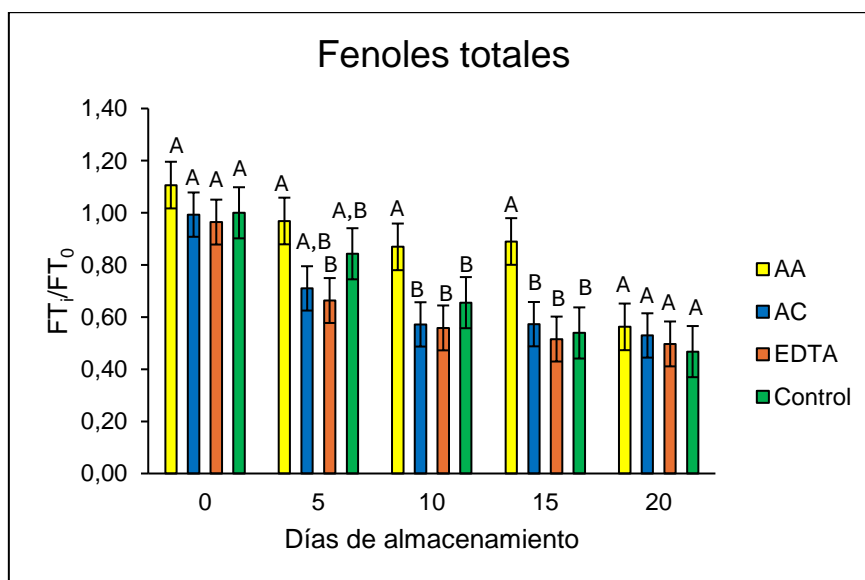
Los compuestos fenólicos constituyen la mayor fuente de antioxidantes en los vegetales, siendo su cuantificación una práctica común al momento de seleccionar condiciones de almacenamiento y de procesamiento, con el objetivo de obtener alimentos frescos y procesados con alto potencial de protección contra radicales libres (Cortez y col., 2018). Por otro lado, también están involucrados en el fenómeno de pardeamiento enzimático ya que pueden actuar como sustratos de las enzimas oxidativas PPO y POD.

Al inicio de las experiencias, las muestras control registraron niveles de compuestos fenólicos en un promedio de $244,76 \pm 8,89$ mgEAG/100 g de puré y mostraron una tendencia a disminuir durante el periodo de almacenamiento, finalizando

con un 50 % menos de su concentración original (figura III.18), probablemente debido a la acción enzimática sobre los sustratos fenólicos.

Durante el almacenamiento refrigerado de las muestras tratadas con AA se detectaron valores significativamente superiores ($p=0,0365$), reduciendo al día 20 porcentajes similares a los observados en el puré control. Según Herrera-Martínez y col. (2013) existen evidencias de que el AA aplicado exógenamente en algunos vegetales aumenta el rendimiento nutricional; y esto lo asociaron con un incremento en los compuestos fenólicos.

El contenido de fenoles totales en las muestras tratadas con AC tuvo un comportamiento similar a la muestra control, el contenido de fenoles totales disminuyó progresivamente a lo largo del almacenamiento y no se observaron diferencias significativas respecto del control. La aplicación de AC en el puré de bananas no tuvo un efecto significativo en relación con la preservación de los compuestos fenólicos.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.18- Evolución del contenido de fenoles totales en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

En las muestras tratadas con EDTA, no se encontró ningún efecto positivo respecto de su acción sobre los antioxidantes ya que el contenido de compuestos fenólicos disminuyó significativamente ($p < 0,05$) al día 10, y luego no se registraron cambios a lo largo de las experiencias, presentando un valor promedio $158,63 \pm 5,11$ mgEAG/100 g de puré en el día 20 del almacenamiento.

La capacidad antioxidante (CAO) en frutas y vegetales procesados es uno de los parámetros más importantes desde el punto de vista nutricional. La importancia de su determinación reside en su potencial acción de prevención ante el desarrollo de enfermedades crónicas (Vu y col., 2018; Banwo y col., 2021). Sin embargo, la composición y contenido de sustancias antioxidantes de estos productos pueden ser susceptibles al estrés oxidativo cuando son expuestos o sometidos a algún tipo de procesamiento. Por lo que resulta necesario complementar las mediciones de las concentraciones de fenólicos con el análisis de la capacidad antioxidante durante el periodo de almacenamiento.

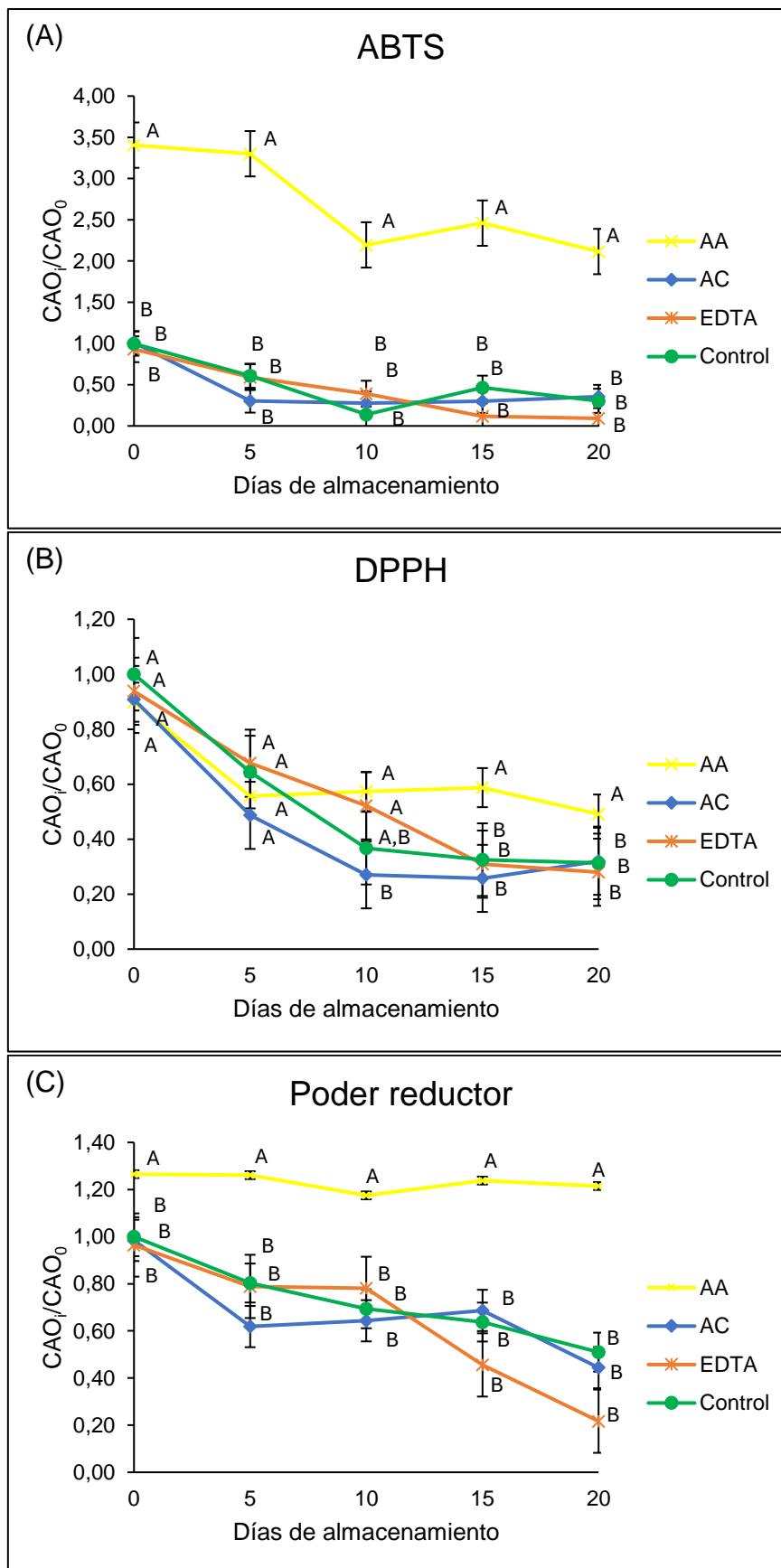
Las muestras control presentaron un valor inicial de CAO medido con ABTS•+ de $0,273 \pm 0,09$ μ mol Trolox/g de puré, $156,27 \pm 4,28$ VCEAC/g de puré con DPPH• y $64,22 \pm 0,53$ mgAAEq/g en poder reductor; los cuales se redujeron significativamente ($p = 0,0006$) desde el día 5 hasta finalizar las experiencias, prácticamente a la mitad de los valores iniciales (figura III.19). Estos resultados fueron coincidentes con la evolución observada en el contenido de compuestos fenólicos durante el almacenamiento refrigerado. Lo que indicaría que la actividad antioxidante proviene principalmente de los compuestos fenólicos.

Las muestras tratadas con AC no mostraron diferencias significativas de CAO en comparación con los valores del control al inicio. Sin embargo, a medida que avanzaba el almacenamiento, se observó una disminución significativa, llegando a ser entre un 50% y un 60% menor que el valor inicial de referencia hacia el final de la experiencia (figura III.19).

El AA tiene actividad antipardeante además de ser un reconocido antioxidante. Las muestras tratadas con AA mostraron un aumento de 250 % en la CAO al inicio del ensayo con ABTS•+ y de 30 % en poder reductor (figura III.19). En tanto que en la CAO medida con el radical DPPH•, las muestras con AA mostraron niveles elevados en un 60 % ($p=0,0215$) respecto del control (figura III.19-B). Sin embargo, durante el almacenamiento se observó que la CAO determinada por la técnica de ABTS•+ disminuyó notablemente a los 10 días y se mantuvo invariable hasta el día 20. La CAO determinada por el método del DPPH• descendió al 60% a los 5 días y luego permaneció invariable, mientras el poder reductor no tuvo cambios significativos durante el almacenamiento.

Las muestras tratadas con AC no mostraron diferencias significativas de CAO en comparación con los valores del control al inicio. Sin embargo, a medida que avanzó el almacenamiento, se observó una disminución significativa, llegando a ser entre un 50% y un 60% menor que el valor inicial de referencia hacia el final de la experiencia (figura III.19).

El tratamiento de los purés con EDTA no tuvo ningún efecto significativo en la CAO determinada por los 3 métodos utilizados, siguiendo la misma tendencia que la muestra control durante el almacenamiento. Esto indica que, al igual que los resultados de la medición del contenido de compuestos fenólicos, no tuvo ningún efecto significativo en la CAO.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.19- Evolución de la capacidad antioxidante total [(A) ABTS•+, (B) DPPH•, (C) Poder reductor] en purés de bananas control y tratados con AA, AC y EDTA, almacenadas a 4 °C.

III.3.6. Contenido de ácidos orgánicos

Los niveles de ácidos orgánicos en una fruta pueden afectar notablemente su sabor, son responsables de la acidez en la pulpa y, al menos en parte, al sabor astringente (Seymour, 1993). Batista-Silva y col. (2018) observaron que la acumulación y degradación de ácidos orgánicos no está directamente relacionada con las características respiratorias y climatéricas de la fruta. La concentración de citrato parece ser el resultado de una interacción estrecha entre el metabolismo y el almacenamiento vacuolar, además de estar regulada por diversos factores ambientales que influyen en la acidez de la fruta.

Los daños físicos provocados durante la elaboración de los productos procesados incrementan la velocidad de respiración como respuesta a los cortes de los tejidos vegetales. Altas tasas de respiración de los productos cortados producen pérdidas rápidas de ácidos, azúcares y otros compuestos que determinan su calidad nutricional y su sabor (Tapia y col., 2015).

Al comparar el contenido de cada ácido orgánico en la pulpa de banana recientemente procesada, se observó que el ácido cítrico se encuentra en mayor concentración ($234,21 \pm 7,27$ mg/100g), seguido por el ácido tartárico ($110,41 \pm 0,27$ mg/100g), y en menor concentración se encuentran el ácido ascórbico, oxálico, y el málico con $9,60 \pm 0,44$ mg/100g, $2,44 \pm 0,14$ mg/100g y $8,04 \pm 0,75$ mg/100g, respectivamente.

En la tabla III.9 se muestra el contenido de ácidos orgánicos determinados por HPLC-DAD en bananas procesadas, al inicio del ensayo y al día 20. Los resultados indican que hay una tendencia de algunos ácidos a disminuir a lo largo del almacenamiento, en concordancia con lo reportado por Soltani y col. (2010). Este comportamiento indicaría que, bajo estas condiciones, ya no existiría producción

endógena de ácidos orgánicos y adicionalmente existiría degradación del mismo (Zhou y col., 2016).

Tabla III.9- Contenido de ácidos orgánicos durante el periodo de almacenamiento refrigerado a 4°C

Tratamientos		Ácido ascórbico (mg/100g)	Ácido oxálico (mg/100g)	Ácido cítrico (mg/100g)	Ácido málico (mg/100g)	Ácido tartárico (mg/100g)
Día 0	Control	9,60 ± 0,44 ^A	8,04 ± 0,75 ^A	234,21 ± 7,27 ^A	2,44 ± 0,14 ^A	110,41 ± 0,27 ^A
	AA	621,91 ± 21,09 ^A	7,87 ± 0,31 ^A	245,55 ± 7,29 ^A	2,30 ± 0,01 ^A	118,47 ± 0,69 ^A
	AC	8,63 ± 0,16 ^A	7,64 ± 0,38 ^A	282,62 ± 5,09 ^A	2,21 ± 0,30 ^A	109,85 ± 7,62 ^A
	EDTA	7,60 ± 0,06 ^A	7,77 ± 0,09 ^A	178,60 ± 8,05 ^A	2,42 ± 0,19 ^A	119,14 ± 1,57 ^A
Día 20	Control	4,29 ± 0,33 ^B	6,31 ± 0,61 ^A	166,74 ± 4,97 ^B	2,07 ± 0,23 ^A	96,37 ± 3,19 ^B
	AA	427,31 ± 27,09 ^B	7,50 ± 0,50 ^A	171,49 ± 9,10 ^B	2,37 ± 0,02 ^B	113,22 ± 2,52 ^A
	AC	3,49 ± 0,07 ^B	7,01 ± 0,94 ^A	252,17 ± 7,27 ^A	2,11 ± 0,43 ^A	110,74 ± 5,43 ^A
	EDTA	4,49 ± 0,02 ^B	7,34 ± 0,44 ^A	146,33 ± 3,59 ^B	2,57 ± 0,03 ^A	119,54 ± 0,04 ^A

^{A,B,C,D} Letras diferentes corresponden a diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tiempos diferentes, en una misma muestra

Diversos estudios indican que el ácido ascórbico tiende a oxidarse más rápidamente a lo largo del almacenamiento (Amorati y col, 2011; Ali y col., 2015; Hussein y col., 2016). La disminución del ácido ascórbico podría atribuirse a la actividad residual de la ascorbato deshidrogenasa presente en el tejido, o bien, a reacciones de oxidación en presencia de ciertos cationes (Hacişevkd, 2009).

Los purés de bananas control y tratados no presentaron cambios significativos en el contenido de ácido oxálico y málico en relación con el tiempo de almacenamiento a 4°C. Sin embargo, el contenido de ácido cítrico mostró una tendencia a disminuir en los purés, control, tratado con AA y con EDTA, a excepción de las muestras tratadas con AC, en los cuales no se encontraron diferencias significativas entre los niveles del inicio y al término del periodo de almacenamiento refrigerado. La disminución de algunos ácidos orgánicos observada en estas muestras durante el almacenamiento refrigerado podría estar relacionada con la actividad respiratoria y la posible participación en el ciclo del ácido tricarboxílico, o en otras rutas metabólicas (Maduwanthi y Marapana, 2019).

III.3.7. Optimización de la concentración de agentes químicos

Con el objetivo de establecer las concentraciones óptimas de los agentes antiparadeantes: ácido ascórbico, ácido cítrico y EDTA, se realizó un ensayo empleando un diseño estadístico centroide simplex. El dominio de este diseño es una figura regular (figura III.19) que tiene tantos vértices como componentes en un espacio para el cual la dimensionalidad es igual al número de componentes menos uno (Candiotti y col., 2014). Posee tres componentes en el que cada uno se estudia en cuatro niveles, a saber, 0 (0%), 1/3 (33%), 1/2 (50%) y 1 (100%), y como variable respuesta se eligió el IP determinado mediante análisis digital de imágenes. Se efectuó un almacenamiento acelerado a 25 °C con los purés tratados en las condiciones establecidas por el diseño estadístico y a las 48 horas se determinaron los cambios en el valor de IP.

En la figura III.20 se observa una representación esquemática del diseño de centroide simplex para tres componentes, un triángulo equilátero en el que los vértices corresponden a los componentes puros, los lados a las mezclas binarias y los puntos internos a las mezclas ternarias. En tal representación a cada composición corresponde un único punto de la trama, y viceversa (Rana y col., 2018).

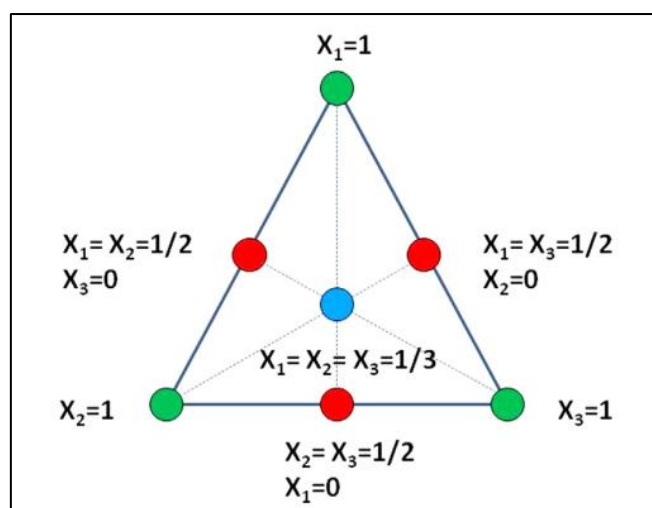


Figura III.20- Representación esquemática de un diseño de centroide simplex para tres componentes (Candiotti y col., 2014)

Al hacer estas experiencias, los coeficientes del siguiente modelo pueden ser estimados utilizando la siguiente ecuación:

$$Y_i = \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_{ij} + \sum \beta_{ijk} X_{ijk}$$

donde Y_i es la variable respuesta, β_i son los coeficientes de regresión para cada término de efecto lineal, β_{ij} y β_{ijk} son términos de efectos de interacción binarios y ternarios y X_i , X_j y X_k son las variables codificadas.

En la tabla III.10 se resume el diseño experimental con las correspondientes concentraciones para cada componente y los valores obtenidos de la variable respuesta para cada corrida.

Tabla III.10- Matriz del diseño experimental y resultados del IP para muestras tratadas con agentes antipardeantes.

N° de experiencia (aleatorizado)	Orden de Corrida	Componente A: ácido ascórbico (%AA)	Componente B: ácido cítrico (%AC)	Componente C: Ácido etildiamintetraacético (%EDTA)	IP
4	1	1,00	1,00	0,00	54,71
1	2	2,00	0,00	0,00	60,89
14	3	0,00	2,00	0,00	54,82
6	4	0,00	1,00	1,00	61,01
11	5	0,00	0,00	2,00	59,50
8	6	1,33	0,33	0,33	55,19
9	7	0,33	1,33	0,33	56,29
7	8	0,67	0,67	0,67	57,80
12	9	0,00	2,00	0,00	55,65
13	10	2,00	0,00	0,00	58,19
3	11	0,00	0,00	2,00	57,27
5	12	1,00	0,00	1,00	57,51
2	13	0,00	2,00	0,00	55,19
10	14	0,33	0,33	1,33	55,40

Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) es una técnica que se utiliza con frecuencia para ajustar los modelos después de haber determinado los factores

críticos y de esta manera hallar los niveles de las variables que optimizan una respuesta. Es una metodología que permite reducir costos en tiempo y experimentación, por lo que actualmente es aplicada ampliamente (Kasnak, 2020; Minitab 2021). En la figura III.21 se puede observar el efecto de cada variable de estudio en el gráfico de contorno generado para la respuesta IP en el puré de bananas.

En la Tabla III.11 se resumen los resultados del análisis estadístico efectuado. De la misma surge el valor F de Fisher calculado a partir de la varianza mostró un valor mayor con respecto al valor crítico, lo que indica que el modelo es altamente significativo a un valor de significancia de $\alpha = 0,05$.

La concentración de antipardeantes fue evaluada en base al cambio de la coloración del producto. Se presentó un efecto con respecto a la concentración del AC y el AA, que correspondió a una disminución en el índice de pardeamiento. El efecto de **A-B** fue significativo ($p=0,0463$) como se corrobora en la tabla III.11. Lo cual implica que existe una disminución en el pardeamiento luego de la aplicación de AA y AC.

Tabla III.11- Matriz de ANAVA del MSR

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	42.73	5	8.55	3.72	0.0488 significant
Linear Mixtur	16.35	2	8.17	3.56	0.0784
BC	10.00	1	10.00	4.36	0.0703
AC	6.37	1	6.37	2.78	0.1343
AB	12.73	1	12.73	5.55	0.0463
Residual	18.37	8	2.30		
Lack of Fit	11.90	4	2.97	1.84	0.2849 not significant
Pure Error	6.47	4	1.62		
Cor Total	61.10	13			

A partir de la optimización gráfica (figura III.21) y numérica con el software Design-Expert® se encontró que las concentraciones óptimas, para el control del pardeamiento en el puré de bananas de los reactivos antipardeantes puros **A** y **B** son 0,79 % (AA 0,044 M) y 1,20 % (AC 0,062 M), respectivamente.

El grado de pardeamiento en función de la concentración del agente químico difiere para cada uno de los antipardeantes. El AC tuvo efectos significativos en la disminución del desarrollo de pardeamiento en todo el rango de concentración ensayado. Sin embargo, el AA mostró ser efectivo en el control del pardeamiento a bajas concentraciones, en coincidencia con lo descrito por Hacisevki (2009). El mencionado autor propuso que el AA a concentraciones elevadas puede actuar como prooxidante promoviendo la generación de especies reactivas de oxígeno en presencia de Fe^{3+} o Cu^{2+} libres. Esta actividad prooxidante deriva de la capacidad del AA para reducir Fe^{3+} o Cu^{2+} a Fe^{2+} o Cu^{+} , respectivamente, y de reducir O_2 a 2O^- y H_2O_2 .

Por otra parte, la adición de EDTA, en este análisis no mostró un efecto significativo en el fenómeno de pardeamiento.

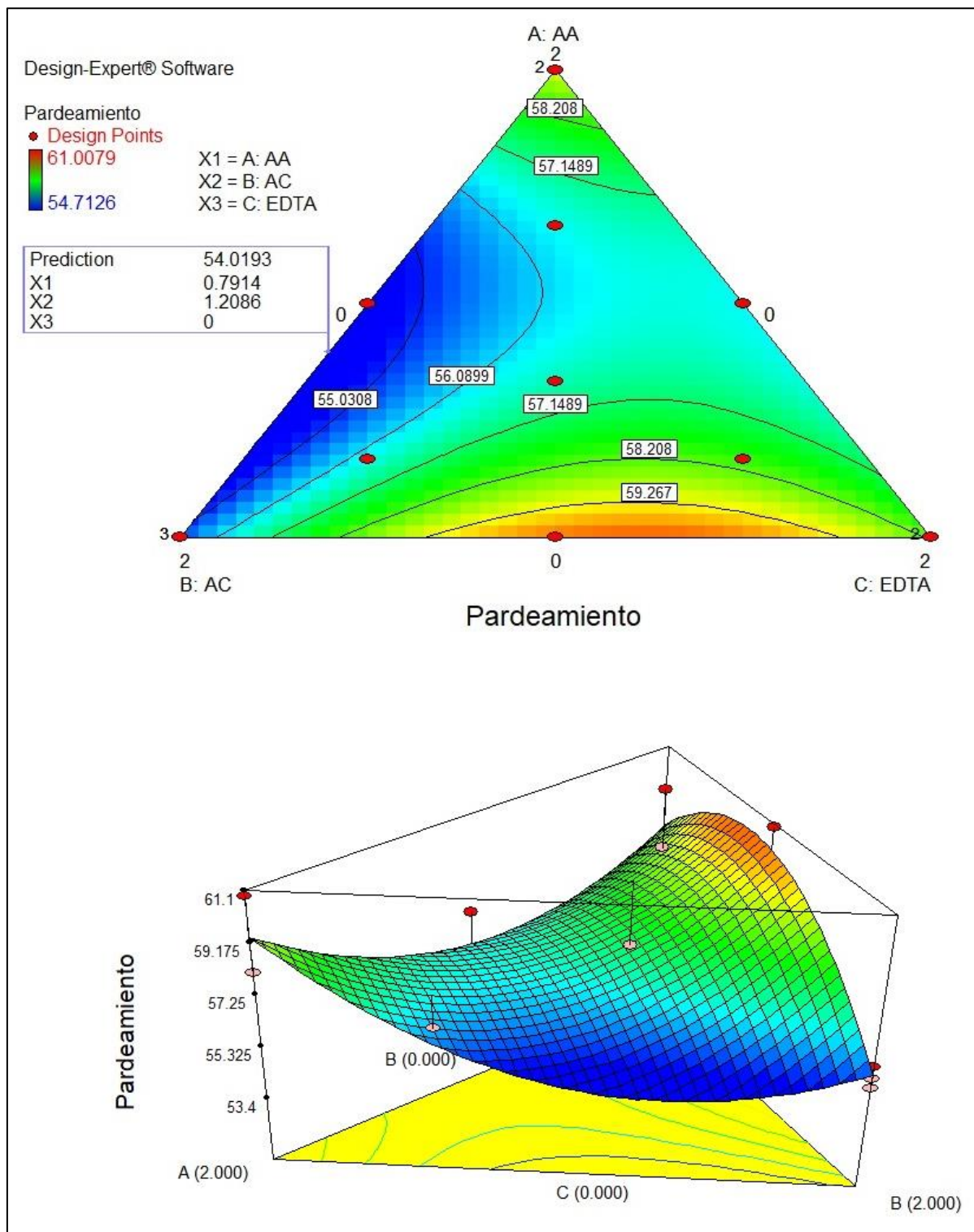


Figura III.21- Gráficos de MSR

III.3.8. Conclusiones parciales

Los resultados revelaron que el AA es altamente efectivo en la preservación del color en el puré de bananas, evitando el pardeamiento, manteniendo la luminosidad y el color amarillo y un tono constante, lo que resulta en un color más uniforme y estable.

El luminosidad de las muestras tratadas con AA se mantuvo en valores constantes durante el almacenamiento, mientras los tratamientos con AC y EDTA tuvieron efectos positivos respecto del control hasta los 10 días. En el parámetro a^* todos los tratamientos químicos utilizados tuvieron efectos significativos observándose, además, un aumento en simultáneo con el aumento del pardeamiento del puré, incluso superiores al control. Mientras que los valores del parámetro b^* se mantuvieron constantes en los tratamientos con AA y EDTA, incrementándose notoriamente en AC y control. Los valores de C^* registraron la mayor saturación o intensidad del color que desarrollaron los purés tratados durante el almacenamiento, siendo estos cambios ligeramente evidentes para los pures tratados con AA. Sin embargo, las muestras tratadas con AC y EDTA aumentaron progresivamente al igual que la muestra control. El cálculo de IP demuestra la efectividad del AA en la preservación del color a diferencia de lo observado para el resto de los agentes antipardeantes ensayados que fueron efectivos en los primeros días de almacenamiento.

Los tratamientos con AA tuvieron un fuerte efecto inhibitorio en la actividad de la enzima PPO, en tanto los efectos del AC fueron menos notorios y la adición de EDTA no tuvo efectos remarcables. Para POD el AA actuó como inhibidor de la actividad enzimática mientras en el puré adicionado de AC y EDTA se distinguió un aumento continuo de su actividad durante el periodo de almacenamiento.

Para todos los tratamientos aplicados se observó que el contenido de ácidos orgánicos disminuyó para el AA, AC y ácido málico, mientras tartárico y oxálico permanecieron invariables.

El contenido en fenoles totales disminuyó con tendencias similares para los tratamientos AC y EDTA, mientras el puré tratado con AA mantuvo contenidos superiores hasta el día 15. Respecto de la capacidad antioxidante determinada con los métodos y del poder reductor, para las muestras tratadas con AA se pudo observar un incremento muy significativo del valor respecto del control. La CAO disminuyó durante el almacenamiento para ABTS•+ y en menor cuantía para el reactivo DPPH•, mientras que el poder reductor se mantuvo. En el resto de los purés adicionados de AC y EDTA no se observaron modificaciones respecto de la evolución que siguió la CAO en el puré control.

Mediante la optimización de las concentraciones con la MSR, para el control del pardeamiento en el puré de bananas de los reactivos antipardeantes puros son 0,79 % de AA (0,044 M) y 1,20 % de AC (0,062 M). El EDTA como antipardeante no tuvo efectos significativos según los resultados de la MSR.

III.4. Tratamientos combinados

El tratamiento con AA demostró ser efectivo en la inhibición de la PPO en un 80 % de su actividad, mediante diferentes mecanismos tales como la disminución de pH, acomplejamiento con el catión metálico de la enzima PPO o debido a su capacidad para reducir las quinonas a compuestos fenólicos antes de que sufran una reacción adicional para formar pigmentos. Sin embargo, el AA tiene un efecto temporal dado que una vez que se oxida a ácido dehidroascórbico, las quinonas se acumulan y se evidencia desarrollo de pardeamiento. Por lo tanto, resulta difícil alcanzar la inhibición total del pardeamiento en el puré de banana utilizando únicamente este agente químico.

En las secciones anteriores también se analizaron los efectos individuales de la exposición del puré de bananas a tratamientos con tecnologías emergentes como la luz UV-C, MO y US. En el primer caso, la luz UV-C resultó ser un eficiente germicida, pero tiene la desventaja de que promueve el pardeamiento enzimático. El tratamiento con MO por otro lado permitió retrasar el pardeamiento con la inactivación de la enzima PPO logrando preservar el color del puré; sin embargo, la pérdida de compuestos termosensibles como los compuestos fenólicos fue significativa. La mejor alternativa tecnológica analizada fue US, la cual es una técnica altamente beneficiosa en el procesamiento del puré de bananas. Las ventajas del US frente a los demás tratamientos incluyen reducción del pardeamiento enzimático, minimización de la pérdida de sabor, una consistencia más homogénea, aumento de la eficiencia del procesamiento sin tener efectos negativos significativos en los parámetros de calidad o propiedades antioxidantes.

En base a estos resultados previos, y a los fines de desarrollar un método de control del pardeamiento del puré es importante analizar la potencial existencia de un efecto sinérgico entre tratamientos químicos y físicos.

Atendiendo a los cambios en el color superficial, la actividad de las enzimas oxidativas (PPO y POD), en la concentración de fenoles totales y su capacidad antioxidante, se propuso como objetivo evaluar el efecto de la combinación de los tratamientos en el puré de bananas. En un primer momento se aplicó US (40 kHz/10 min) inmediatamente después del procesado para la obtención del puré de bananas y luego se agregó AA 0,044 M.

III.4.1. Evaluación del pardeamiento

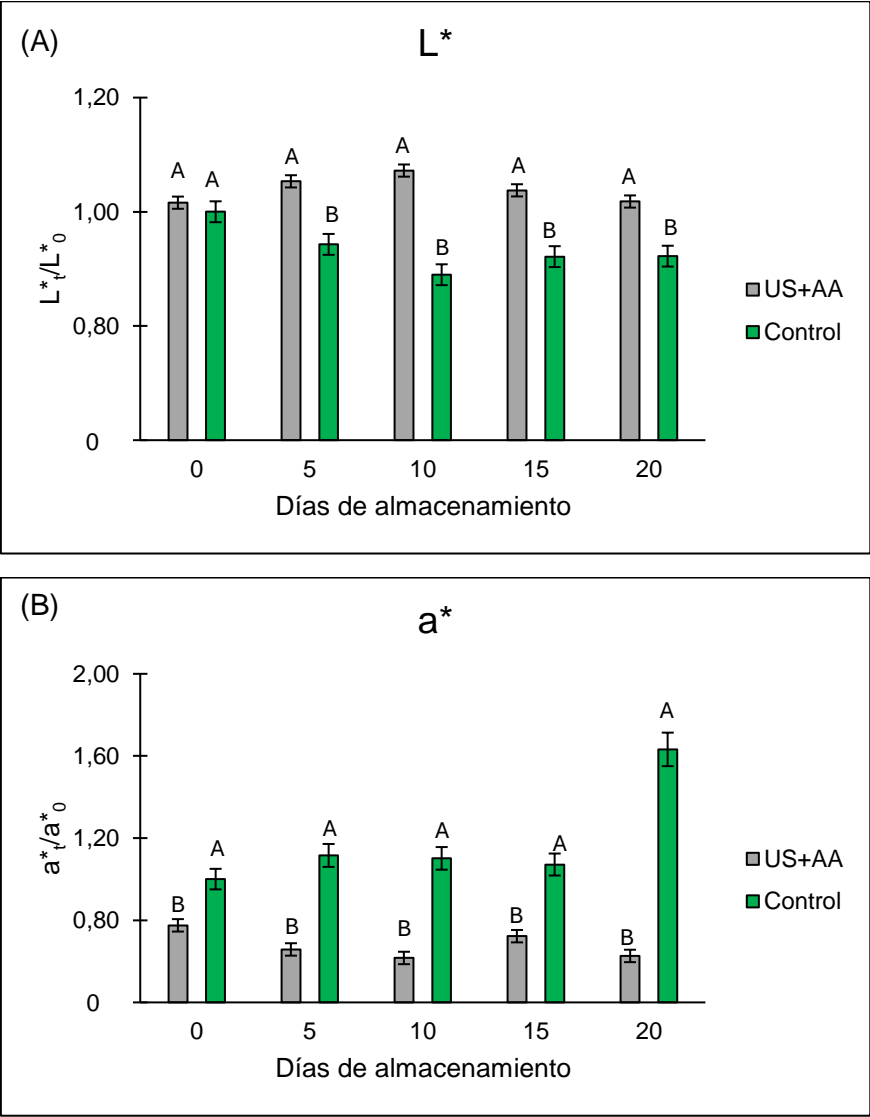
Los purés tratados con (US+AA) no presentaron diferencias significativas al inicio del ensayo en el parámetro L^* . Posteriormente, a partir del día 5 del almacenamiento y hasta el final, los valores de L^* fueron significativamente superiores ($p=0,0003$) a las muestras de puré control, mostrando una diferencia visual notable en el color (figura III.22-A).

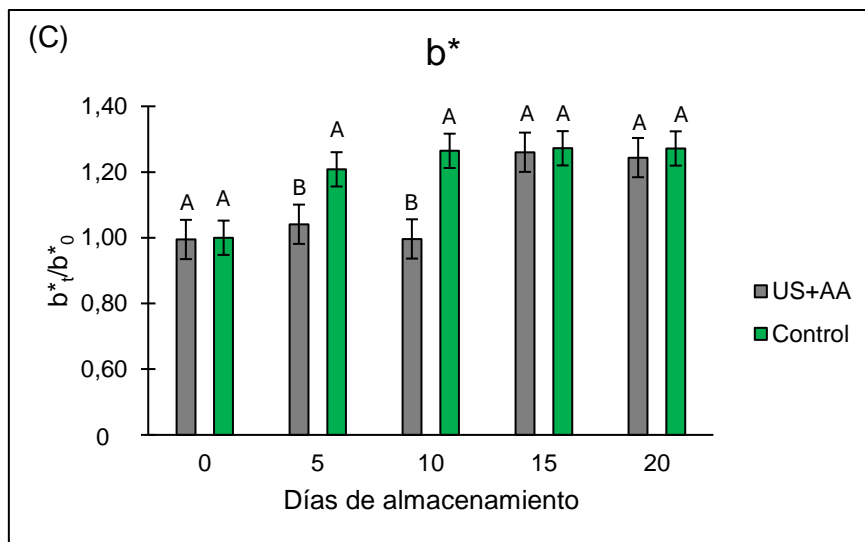
En los purés tratados con US+AA los valores de a^* fueron muy inferiores a los determinados en los purés control ($p=0,0297$), presentando una reducción aproximada de 40 % respecto del control (figura III.22-B).

De modo similar, en el parámetro b^* las muestras con el tratamiento combinado US+AA mostraron valores inferiores significativamente diferentes ($p=0,0105$) en comparación con las muestras control, principalmente entre los días 5 y 10, finalizando el almacenamiento con valores similares.

Como se mencionó anteriormente, hasta la fecha no hay un consenso general acerca del parámetro óptimo para evaluar el pardeamiento del pure de banana. Guessan y col. (2018) han informado durante el pardeamiento en puré de plátanos disminuciones significativas en los parámetros L^* y b^* , y aumentos en el parámetro a^* . Otros investigadores, como Escalante-Minakata y col. (2018) consideran que el parámetro L^* es el más sensible para evaluar el desarrollo de pardeamiento enzimático en la pulpa

de bananas; mientras que Esehaghbeygi y col. (2014) hallaron cambios significativos en los tres parámetros colorimétricos en el proceso de deshidratación en bananas, L^* y b^* aumentan y a^* disminuye. Sin embargo, en este trabajo de tesis se encontró que al evidenciarse el fenómeno de pardeamiento en el pure de banana los parámetros a^* y b^* tendieron a aumentar, mientras L^* disminuyó.

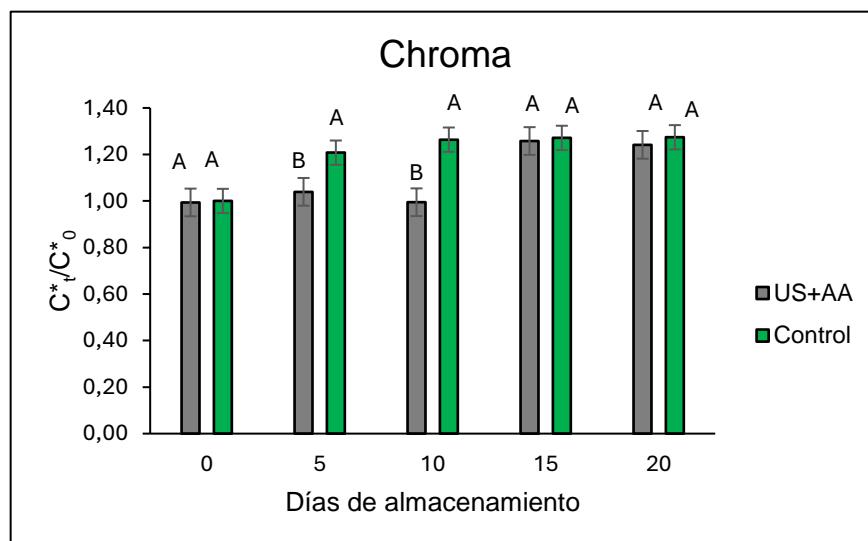




ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.22- Evolución de los parámetros colorimétricos L^* (A) a^* (B) y b^* (C) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

Los resultados obtenidos para el parámetro hue (h°) y Chroma indican que el tratamiento combinado US+AA permitió una mejor conservación de las características cromáticas del puré de bananas.



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.23- Evolución del parámetro colorimétricos Chroma (C^*) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

En lo referido al Chroma (figura III.23), que representa la intensidad del color, los valores en el tratamiento US+AA fueron superiores en la mayor parte del almacenamiento refrigerado, lo que indica una mejor preservación de la viveza del color. Esta mayor estabilidad cromática puede atribuirse a la acción antioxidante del ácido ascórbico y al posible efecto protector del ultrasonido sobre los pigmentos responsables del color (Wang y col., 2015; Terefe y col., 2017).

En cuanto a los valores de hue, a lo largo de los 20 días de almacenamiento, el tratamiento US+AA mostró valores significativamente más altos que el control ($p < 0,05$), lo cual sugiere una mayor estabilidad del color. Mientras que en la muestra control se observó una leve disminución de hue a partir del día 15. En el tratamiento combinado este parámetro se mantuvo estable y elevado.

Estos hallazgos coinciden con otros estudios donde la aplicación de tratamientos combinados ha mostrado eficacia en la preservación del color en productos vegetales procesados (Cheng y col., 2019; Gutiérrez y col., 2020).

Tabla III.12- Evolución del parámetro hue (h°) en puré de bananas control y tratados con US+AA, almacenadas a 4 °C

Tiempo (Días)	Control	US+AA
0	85,81 \pm 0,25 ^B	86,74 \pm 0,41 ^A
5	86,13 \pm 0,64 ^A	87,33 \pm 0,68 ^A
10	86,35 \pm 0,50 ^A	87,41 \pm 0,55 ^A
15	86,47 \pm 0,40 ^B	87,60 \pm 0,46 ^A
20	84,63 \pm 0,47 ^B	87,89 \pm 0,26 ^A

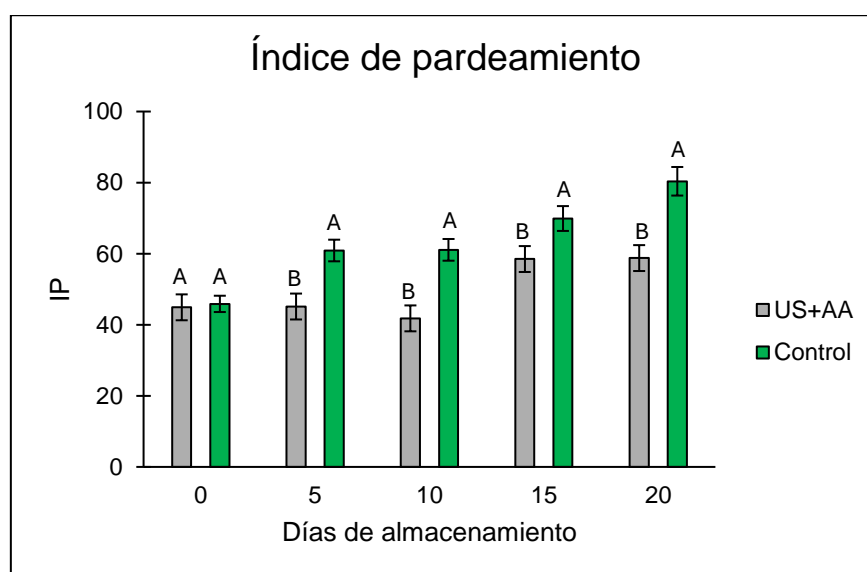
^{A,B,C,D} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos

En la aplicación del tratamiento combinado US+AA se observó un importante efecto retardante en la aparición o el inicio del pardeamiento enzimático (figura III.24). Los valores de IP en las muestras tratadas fueron significativamente inferiores ($p=0,041$) a las muestras control. Similares resultados fueron obtenidos por Xu y col. (2022)

quienes aplicaron tratamientos combinados de 0,2 % de AA (0,011 M) con 40 kHz/3 min de US de baja frecuencia en pulpa de papa exhibiendo un mejor efecto inhibitorio del pardeamiento enzimático que los tratamientos por separado, y no observaron ningún efecto adverso sobre la textura ni las cualidades nutricionales.

El IP en las muestras control aumentó progresivamente a lo largo del almacenamiento, siendo sus valores iniciales de $46,57 \pm 1,22$ y alcanzando valores finales de $80,38 \pm 1,77$ al día 20 de la experiencia.

Por el contrario, en las muestras tratadas con US+AA no se observaron cambios significativos en relación con el tiempo del almacenamiento, preservando el color hasta el día 10 y luego aumentó al día 15 a $58,77 \pm 0,40$; inferior a la muestra control ($p=0,0177$).



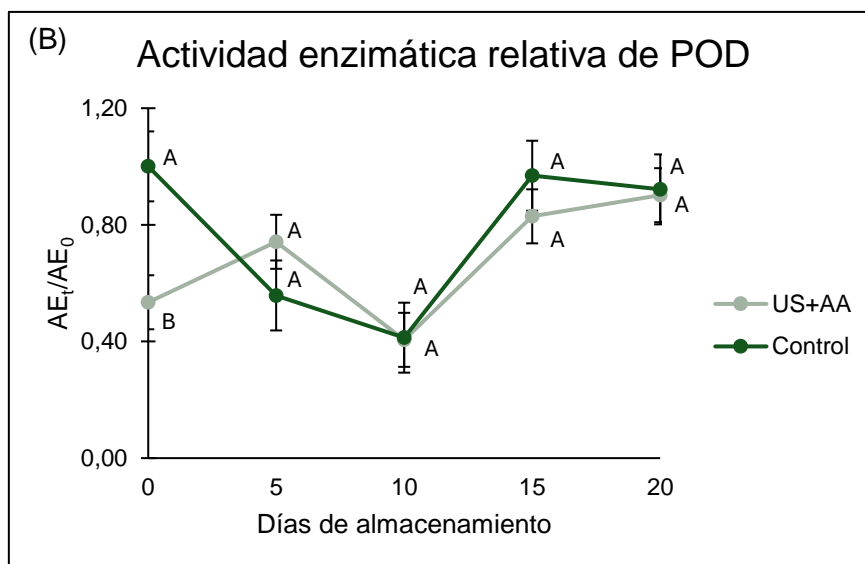
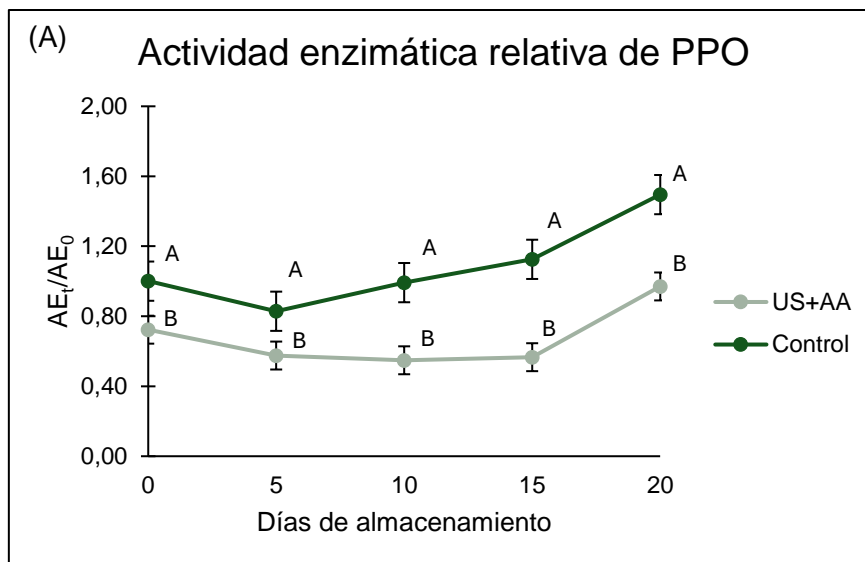
^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.24- Evolución del índice de pardeamiento (IP) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

El tratamiento combinado US+AA resultó ser más efectivo en la preservación del color del puré de bananas durante el almacenamiento, en comparación con los tratamientos individuales por separado. El valor de L^* se mantuvo elevado durante todo el período de almacenamiento cuando se utilizó el tratamiento combinado, lo que sugiere que el puré mantuvo un color claro por más tiempo. En cambio, con el tratamiento de US solo, por ejemplo, el valor de L^* se mantuvo elevado hasta el día 15, después del cual disminuyó. Además, los valores bajos más pronunciados de a^* , b^* e IP, demostraron que el tratamiento combinado US+AA fue más eficiente.

III.4.2. Actividad enzimática

La aplicación del tratamiento combinado US+AA en las muestras de puré de bananas dio como resultado un efecto inhibitorio cercano al 30 % ($p=0,0005$) en la actividad de la enzima PPO, que luego se acentuó al 45 % en el día 15 (figura III.25-A) mostrando una tendencia a incrementar su actividad al finalizar el almacenamiento. Estos porcentajes de inhibición son inferiores a los hallados por Jang y Moon (2011) quienes alcanzaron niveles de 75 a 95 % de inhibición en pulpa de manzanas inmediatamente después del tratamiento con una combinación de AA 1% y US. Esta inhibición fue temporal, ya que aumentó gradualmente durante su almacenamiento del día 4 al 12.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.25- Actividad enzimática relativa de PPO (A) y POD (B) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

En las muestras tratadas con US+AA, se observó una disminución significativa en la actividad de la enzima POD al inicio del ensayo ($p=0,0222$), lo cual podría asociarse a efectos de inhibición o degradación parcial de la enzima como resultado del

tratamiento aplicado (figura III.25-B). Luego, a los 5 días la actividad de la enzima fue similar a la determinada para la muestra control durante el almacenamiento refrigerado.

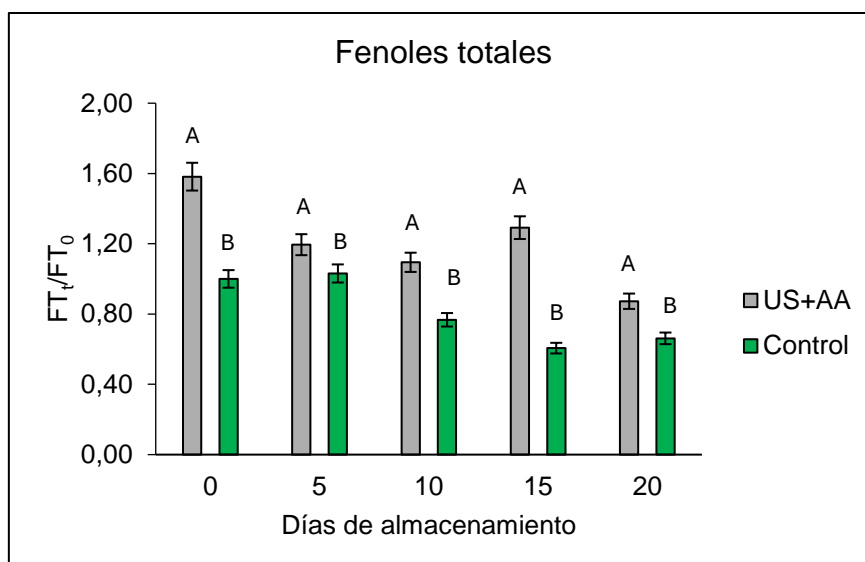
Suponiendo que la fracción proteica de la enzima haya sufrido una desnaturalización parcial por efecto del ultrasonido, con pérdida de estructura terciaria, se podría producir luego una regeneración a su estado normal por la recombinación de grupos hidrógenos o sulfhidrúlicos, lo que explicaría los aumentos de la actividad enzimática luego del descenso inicial de la misma (Christopoulos y Tsantili, 2015).

Al inicio del tratamiento combinado la inhibición de la actividad enzimática fue del 60% respecto del control, porcentaje mayor a lo encontrado inmediatamente luego del tratamiento individual con AA o con US, en el que hubo un descenso del 50% de la actividad o no se detectó inhibición de la actividad enzimática respectivamente. A partir de estos hallazgos se podría suponer la existencia de un efecto sinérgico entre ambos tratamientos capaces de inhibir la acción de la enzima POD.

III.4.3. Fenoles totales y capacidad antioxidante

Los compuestos fenólicos están involucrados en dos propiedades importantes para los vegetales, la actividad antioxidante y el pardeamiento enzimático. Los fenoles son buenos sustratos de enzimas oxidativas y también buenos captadores de radicales libres.

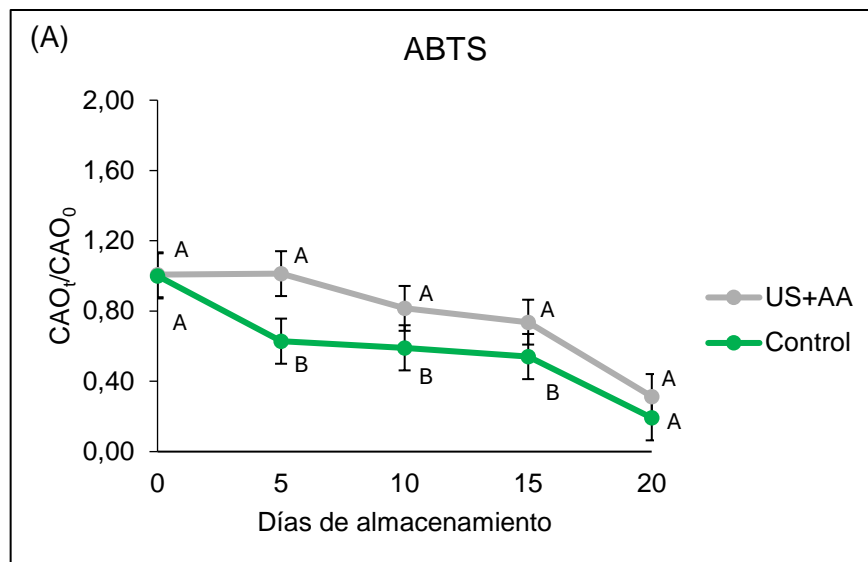
Al inicio del almacenamiento, la aplicación del tratamiento combinado produjo un aumento significativo en la concentración de compuestos fenólicos ($p=0,0078$), aproximadamente un 60 % superior al valor encontrado en las muestras control (figura III.26). Si bien luego se reduce significativamente al día 5 ($p=0,0027$), fue superior a los valores encontrados en las muestras control ($p=0,0106$), evidenciándose un posible efecto protector sobre estos compuestos.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

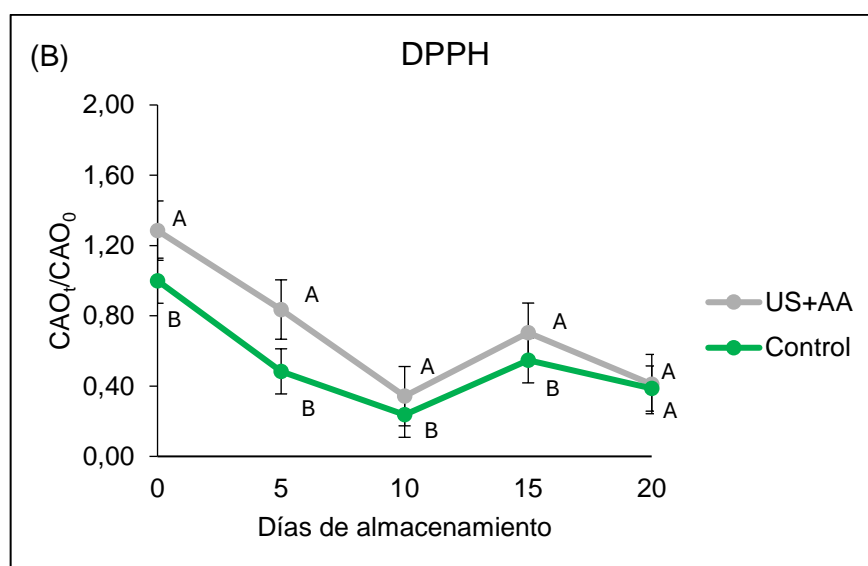
Figura III.26- Variaciones en la concentración de compuestos fenólicos en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

En general para vegetales, el ácido ascórbico y los fenoles son las sustancias más representativas que contribuyen a la capacidad antioxidante. Los ensayos utilizados para determinar la capacidad antioxidante son rápidos y consistentes, sin embargo, cada técnica tiene su ventaja y desventaja por lo que se prefiere evaluar con varios métodos de análisis en lugar de tener un solo enfoque. La técnica DPPH• (2,2 - difenil-1-picrilhidracilo) se basa en la premisa de que un donante de hidrógeno es un antioxidante. Con el radical sintético ABTS•+ (2,20-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico) el ensayo se basa en una reacción colorimétrica en el que los radicales ABTS•+ decoloran en la presencia de sustancias antioxidantes tanto lipofílicas como hidrofílicas. Mientras que el poder reductor se basa en la capacidad que posee el extracto (con solvente polar) para reducir el Fe^{+3} a Fe^{+2} (Brand-Williams y col., 1995; Re y col., 1999; Niki, 2010; Darsini y col., 2012; Mesa-Vanegas y col., 2015).



ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.27 (A)- Evolución de la capacidad antioxidante total (ABTS•+) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

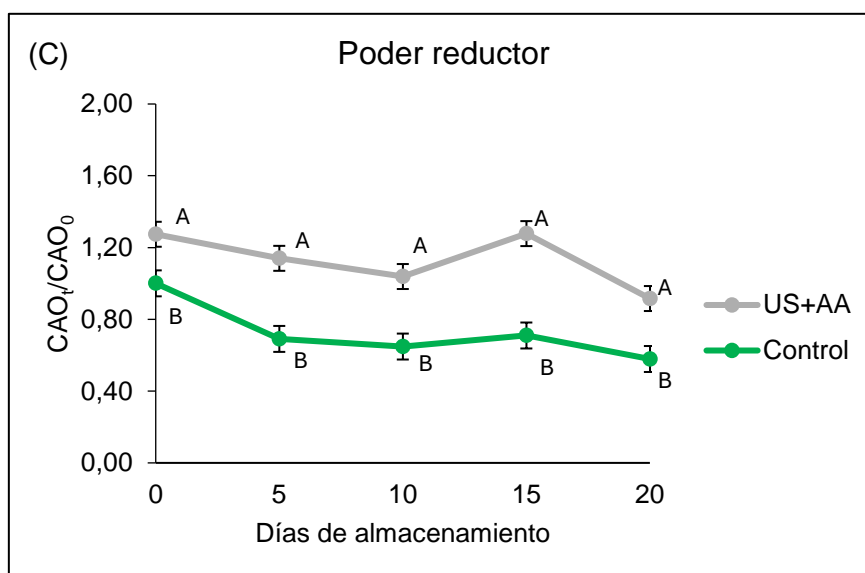


ABCD Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.27 (B) - Evolución de la capacidad antioxidante total (DPPH•) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

En cuanto a las muestras tratadas con US+AA, el comportamiento fue concordante con los resultados encontrados para el contenido de fenoles totales. Se registraron incrementos significativos ($p=0,0011$), superiores al 20 %, en la CAO medida con DPPH• y en poder reductor al inicio del almacenamiento (figura III.27). Los valores

de CAO medidos con ABTS•+ permanecieron constantes hasta el día 5, pero significativamente superior al control.



^{ABCD} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, comparados en un mismo día.

Figura III.27 (C)- Evolución de la capacidad antioxidante total (Poder reductor) en purés de bananas control y tratados con US+AA, almacenados a 4 °C.

Existen evidencias que indican que el ácido ascórbico tiene una acción protectora en el contenido de compuestos fenólicos, probablemente debido a la reducción de los fenoles oxidados y a la regeneración de los compuestos, los cuales a su vez tienen un mayor potencial redox que el ascorbato (Hacışevkđ, 2009).

III.4.4. Evaluación sensorial

Los atributos sensoriales como la apariencia, el aroma, el sabor y la textura son determinantes en la selección de tratamientos que eviten o retarden los cambios físicos y/o químicos indeseables en los alimentos (Hough y Fiszman, 2005). Lo que se busca

en general, es evitar que el procesamiento afecte de manera negativa a la calidad organoléptica del producto.

La evaluación al final del almacenamiento refrigerado fue realizada por un panel semi-entrenado formado por 8 integrantes, teniendo en cuenta principalmente los atributos: apariencia, textura, aroma y el sabor. Para la evaluación de apariencia se utilizó luz blanca y cada muestra fue servida en vasos de plásticos blancos, debidamente codificados.

Los resultados de la evaluación sensorial mostraron que las muestras control recibieron puntajes significativamente inferiores ($p=0,0041$) al establecido como límite (≥ 5) para el atributo de apariencia global ($2,41 \pm 0,54$), lo que se pudo asociar a un mayor desarrollo de colores pardos. Los mayores puntajes se le asignaron a este atributo en las muestras de puré tratadas con US+AA ($5,81 \pm 1,23$), las cuales no presentaron pardeamiento visualmente apreciable y tenían aspecto “fresco” (figura III.28).

Al evaluar el atributo aroma se encontraron resultados con tendencias opuesta a lo observado para la apariencia, fue significativamente inferior ($p= 0,0013$) al valor de las muestras control, en las muestras tratadas con US+AA sumó una media de $5,38 \pm 2,32$ mientras que el control obtuvo $9,00 \pm 0,01$ puntos. Los ésteres son los principales responsables del aroma en el puré de bananas. Los amil-ésteres son los responsables del "gusto a banana" y los butil-ésteres contribuyen al "gusto a fruta" y los fenil-ésteres contribuyen al aroma etéreo (Guerrero, 1993). Durante el pardeamiento, estos compuestos pueden reaccionar generando nuevos compuestos sin mejorar el valor nutricional, pero con un aroma más intenso.

Con respecto al sabor, a las muestras control se les asignaron un puntaje de $6,00 \pm 1,36$, significativamente superior ($p=0,0139$) a las muestras tratadas con US+AA. Sin embargo, simultáneamente también se evaluaron descriptores del dulzor como “más

dulce” y “menos dulce”, hallando en ambos casos puntajes por encima del punto de corte ($\geq 4,5$). Estos valores son atribuidos naturalmente al agregado de ácido ascórbico que le confiere un sabor menos dulce pero agradable.

Estos resultados son importantes en términos tecnológicos ya que los tratamientos propuestos son más efectivos para inhibir el pardeamiento en el puré de bananas, reduciendo las pérdidas que producen estas reacciones indeseables en la industria, extendiendo su vida útil y con una mayor aceptabilidad por parte del consumidor al preservar el color y la calidad nutricional.

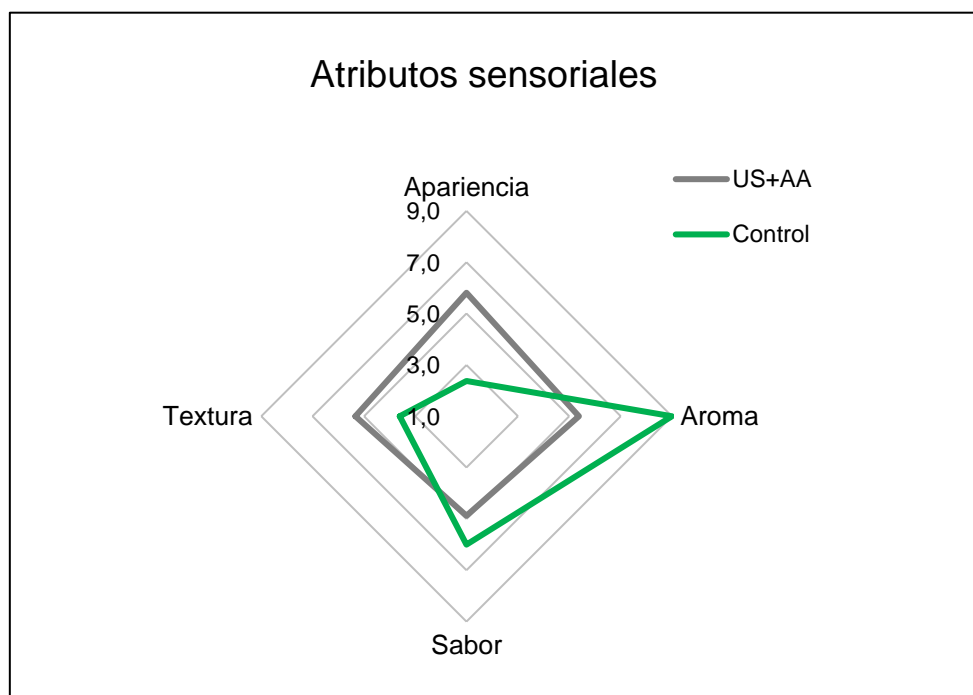


Figura III.28- Puntajes globales de los atributos sensoriales evaluados

El puntaje para el atributo textura fue de $5,33 \pm 1,52$ para el puré tratado con US+AA, significativamente superior a las muestras control ($3,66 \pm 1,22$). Esto podría ser atribuido a que el procesamiento con el US favorece la homogenización del puré.

Si bien el objetivo de este estudio se basó en la inactivación de las enzimas oxidativas PPO y POD, existen otras como la pectinmetilesterasa (PME) presentes en

la banana y que son capaces de ocasionar cambios indeseables en la textura (Ly Nguyen y col., 2002; Villanueva-Tiburcio y col., 2016), lo que podría explicar el bajo puntaje otorgado a este atributo en las muestras sin tratar.

El tratamiento combinado US+AA ha demostrado ser un tratamiento apropiado para el puré de bananas, resultando en un producto homogéneo, con una buena textura y de buena calidad sensorial.

III.4.5. Conclusiones parciales

En los purés tratados con US+AA, los valores de a^* y b^* fueron inferiores a los determinados en los purés control. El parámetro L^* , por otro lado, se mantuvo elevado durante todo el almacenamiento en las muestras tratadas.

Con la aplicación del tratamiento combinado US+AA, se observó un importante efecto retardante en la aparición o el inicio del pardeamiento enzimático. Los valores de IP en las muestras tratadas fueron significativamente inferiores a los de las muestras control.

En las muestras de puré de bananas tratadas con US+AA, se observó un efecto inhibitorio entre 30% y 45% en la actividad de la enzima PPO y una disminución significativa cercana al 50% en la actividad de la enzima POD al inicio del ensayo.

Se registraron incrementos significativos superiores al 20 %, en la CAO en los primeros días del almacenamiento.

En las pruebas sensoriales el puré de banana tratado con US+AA obtuvieron puntajes elevados en la mayoría de los atributos evaluados, lo que indica que se trata de un producto visualmente agradable, homogéneo, con una buena textura y de apropiada calidad sensorial.

IV Conclusiones generales

El color en puré de banana es indicativo de su calidad, ya que se ponen de manifiesto numerosas reacciones de deterioro, las cuales generan pigmentos pardos, dando un aspecto desagradable al producto y alterando su calidad nutricional y microbiológica.

Un factor importante con incidencia en la calidad del puré de bananas es el estado de madurez de la fruta. Según los parámetros medidos, la etapa 5 se encuentran dentro de los límites aceptables de calidad, donde el porcentaje de ALF es bajo y los parámetros colorimétricos característicos de la cáscara de la banana como L^* y a^* . Esta etapa es óptima para procesarlas, ya que el contenido de azúcar y la textura son apropiadas para obtener un producto con buen sabor y una palatabilidad agradable, lo que los hace adecuados para su uso en la industria alimentaria

De las determinaciones realizadas en la caracterización de las bananas se concluyó que:

- Las bananas cultivadas en Formosa presentaron un contenido de compuestos fenólicos de $545,83 \pm 86,98$ mgEAG/100g, un valor interesante dado que a estos compuestos se les atribuye el poder antioxidante del fruto. Además, en comparación con las bananas de importación, se obtuvieron elevadas concentraciones de azúcares, unos $221,5 \pm 77,85$ mg/g de carbohidratos totales.
- A través del uso de imágenes digitales, se definieron los parámetros para medir el grado de maduración óptimo de las bananas, comparando con la escala Von Loesecke, para un puré de buena calidad: $L^*=53,23 \pm 0,68$; $a^*= -1,51 \pm 0,80$; $b^*=29,25 \pm 0,99$ y 8 %ALF.
- La actividad de la enzima PPO fue mayor en las bananas en el estadio maduras (E5) que en las bananas inmaduras (E1).

- Se determinó, mediante el ACP, que en gran medida las variables se encuentran interrelacionadas, por lo cual los parámetros bioquímicos a medir en los ensayos de almacenamiento refrigerado del puré de banana son fenoles totales, capacidad antioxidante y las actividades enzimáticas (PPO y POD).

Respecto del puré de banana, se pudo determinar que:

- El pardeamiento enzimático es acompañado por un incremento en los parámetros colorimétricos a^* y b^* , y una disminución de la luminosidad (L^*). Los parámetros colorimétricos L^* , b^* , C^* e IP proporcionan una evaluación general del cambio de color total, y pueden considerarse como indicadores del pardeamiento en el producto.
- La aplicación de MO y US previamente al almacenamiento refrigerado a 4 °C permitió conservar el color del puré de bananas por al menos 15 días, retardando el pardeamiento enzimático.
- Los tratamientos con US a 40 kHz de frecuencia por 10 min y las MO a una potencia de 800 W por 25 s, permitieron inactivar la enzima PPO, mientras que la enzima POD fue inhibida parcialmente con dosis de 1,97 kJ/m² de irradiación UV-C.
- El tratamiento con luz UV-C, aunque no tuvo efectos positivos en el color superficial, resultó ser mejor en el control del desarrollo de microorganismos, reduciendo hasta 2,89 log UFC/g el recuento inicial de mesófilos totales.
- En todos los tratamientos físicos evaluados el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante disminuyeron progresivamente a lo largo del periodo de almacenamiento a 4° C. Aunque, al inicio del almacenamiento, la aplicación de la dosis 1,97 kJ/m² de luz UV-C generó un incremento significativo en el contenido de fenoles totales en el puré de bananas.
- Entre los tratamientos químicos aplicados individualmente (AA, AC y EDTA) en los purés de bananas almacenadas a 4°C, el AA (0,044 M) resultó ser el de mayor

efectividad en la inhibición de la PPO y por tanto en el retraso del pardeamiento enzimático, además no se registraron cambios en los parámetros de color L* e IP. El AA fue capaz de preservar las propiedades antioxidantes del puré de banana y reducir su pardeamiento enzimático.

Del análisis de los resultados de los tratamientos físicos y químicos individuales, surgió la alternativa de combinarlas (US+AA) para potenciar el efecto antipardeante. Las enzimas relacionadas al pardeamiento, PPO y POD fueron inhibidas parcialmente por la aplicación del tratamiento con US combinado con AA, de modo que el fenómeno de pardeamiento se retardó. Por otra parte, los niveles de compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante presentaron los máximos valores en las muestras con este tratamiento, sugiriendo un efecto sinérgico entre el agente antipardeante y la tecnología ultrasónica.

En las pruebas sensoriales el puré de banana tratado con US+AA obtuvieron puntajes elevados en la mayoría de los atributos evaluados, lo que indica que se trata de un producto visualmente agradable, homogéneo, con una buena textura y de apropiada calidad sensorial.

Finalmente, se concluye que la aplicación de un tratamiento combinado de AA con US y su posterior almacenamiento refrigerado a 4°C, es una alternativa tecnológica viable para la elaboración de puré de bananas, con una vida útil de 20 día, de buena calidad organoléptica y nutricional.

V Bibliografía

- Abid M., Jabbar S., Hu B., Hashim M.M., Wu T., Lei S., Khan M.A., y Zeng X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984–990.
- Aday M. S., Temizkan R., Büyükcın M. B., y Caner C. (2013). An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*, 52(2), 93-101.
- Adeyemi, O. S., y Oladiji, A. T. (2009). Compositional changes in banana (*Musa ssp.*) fruits during ripening. *African Journal of Biotechnology*, 8(5).
- Ahmed, J. (2020). Innovative Processing Technologies for Banana Products. *Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition*, 169-189.
- Ako H., y Nip W. K. (2006). Enzyme classification and nomenclature. *Food Biochemistry and Food Processing*, 135-154.
- Al Faruq A., Zhang M., y Adhikari B. (2018). A novel vacuum frying technology of apple slices combined with ultrasound and microwave. *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 522-529.
- Ali H. M., El-Gizawy A. M., El-Bassiouny R. E. y Saleh, M. A. (2015). Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 3651-3659.
- Ali H.M., Abo-Shady A., Sharaf Eldeen H.A., Soror H.A., Shousha W.G., Abdel-Barry O.A. y Saleh A.M. (2013). Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chemistry Central Journal*, 7:53–61
- Allothman M., Bhat R. y Karim A. A. (2009). UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 512-516.
- Alzamora S.M., López-Malo A., Tapia M.S., et al. (2016). Minimally processed foods. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier; 2016; 767–771.
- Amaral R. D. A., Benedetti B. C., Pujola M., Achaerandio I., y Bachelli M. L. B. (2015). Effect of ultrasound on quality of fresh-cut potatoes during refrigerated storage. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 176-184.
- Amodio M. L., Cabezas-Serrano A. B., Peri G. y Colelli G. (2011). Post-cutting quality changes of fresh-cut artichokes treated with different anti-browning agents as evaluated by image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 62(2), 213-220.
- Amorati R., Pedulli G.F., Valgimigli L. (2011). Kinetic and thermodynamic aspects of the chain-breaking antioxidant activity of ascorbic acid derivatives in non-aqueous media. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 9:3792–3800
- Anal A. K., Jaisanti S. y Noomhorm A. (2014). Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum*

- varum) and their antioxidative potentials in fish oil. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2632-2639.
- Anaya-Esparza L. M., Velázquez-Estrada R. M., Sayago-Ayerdi S. G., Sánchez-Burgos J. A., Ramírez-Mares M. V., de Lourdes García-Magana M. y Montalvo-González E. (2017). Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of soursop nectar. *LWT- Food Science and Technology*, 75, 545-551.
- Andrés-Bello A., Barreto-Palacios V., García-Segovia P. et al. (2013). Effect of pH on Color and Texture of Food Products. *Food Engineering Reviews*, 5, 158–170.
- Angelidis A. S., Chronis E. N., Papageorgiou D. K., Kazakis I. I., Arsenoglou K. C. y Stathopoulos G. A. (2006). Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: A potential food-quality index. *Food Microbiology*, 23(1), 95-100.
- Antonio-Gutiérrez O. T., López-Díaz A. S., López-Malo A., Palou E. y Ramírez-Corona N. (2019). UV-C Light for processing beverages: principles, applications, and future trends. *Processing and Sustainability of Beverages* (pp. 205-234).
- Anyasi T. A., Jideani A. I. O. y Mchau G. A. (2015). Morphological, physicochemical, and antioxidant profile of noncommercial banana cultivars. *Food Science and Nutrition*, 3(3), pp. 221–232.
- Arias Gorman, A. M. (2017). Efecto de la aplicación de tecnologías emergentes en los atributos de calidad de productos derivados del mango y su comparación con tratamientos térmicos convencionales (Tesis doctoral). Universidad Nacional del Nordeste.
- Arogundade L. A. y Mu T. H. (2012). Influence of oxidative browning inhibitors and isolation techniques on sweet potato protein recovery and composition. *Food Chemistry*, 134(3), 1374-1384.
- Artés F., Gómez P. A., y Artés-Hernández F. (2007). Physical, Physiological and Microbial Deterioration of Minimally Fresh Processed Fruits and Vegetables. *Food Science and Technology International*, 13(3), 177–188.
- Arvanitoyannis I. S. y Mavromatis A. (2009). Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(2), 113-135.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis (AOAC) (2005). 18th Edition. Washington, DC.
- Azmir J., Zaidul I. S. M., Rahman M. M., Sharif K. M., Mohamed A., Sahena F. y Omar A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Balcázar J. (2014). Plan de exportación de banano variedad Cavendish Valery de Ecuador a Adriafruit Italia SpA. *Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014*.
- Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., y Utama, G. L. (2021). Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. *Food Bioscience*, 43, 101320. ISSN 2212-4292.

- Baridón E., Vailatti R., Rachoski A. y Villarreal J. (2017). Fertilización de banano (*Musa paradisiaca* L.) en Formosa, Argentina: Rendimientos y resultados económicos. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica* N°27 (pp. 15-18).
- Barrett D. M. y García, E. (2002). Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market* (8, pp. 273-309). CRC Press.
- Batista K.A., Batista G.L.A., Alves G.L. y Fernandes K.F. (2014). Extraction, partial purification and characterization of polyphenol oxidase from *Solanum lycocarpum* fruits. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 102, 211–217.
- Batista-Silva, W., Nascimento, V. L., Medeiros, D. B., Nunes-Nesi, A., Ribeiro, D. M., Zsögön, A., y Araújo, W. L. (2018). Modifications in organic acid profiles during fruit development and ripening: correlation or causation?. *Frontiers in plant science*, 9, 1689.
- Bazaz R., Baba W. N., Masoodi F. A. y Yaqoob S. (2018). Effect of some preservation techniques on quality parameters and antioxidant properties of banana pulp during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 661-673.
- Beirão-da-Costa S., Moura-Guedes M. C., Ferreira-Pinto M. M., Empis J. y Moldão-Martins M. (2014). Alternative sanitizing methods to ensure safety and quality of fresh-cut kiwifruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 1-10.
- Bennett R. N., Shiga T. M., Neuza H. M. A., Rosa E. A. S., Lajolo F. M. y Cordenunsi B. R. (2010). Phenolics and Antioxidant Properties of Fruit Pulp and Cell Wall Fractions of Postharvest Banana (*Musa acuminata* Juss.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 7991–8003.
- Berardi A. (1971). Cultivo de banano. Colección Agropecuaria. INTA, Buenos Aires.
- Bermúdez-Aguirre D., Mobbs T. y Barbosa-Cánovas G. V. (2011). Ultrasound applications in food processing. *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (pp. 65-105). Springer, New York, NY.
- Bi X., Hemar Y., Balaban M. O. y Liao X. (2015). The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 567-575.
- Birmpa A., Sfika V. y Vantarakis A. (2013). Ultraviolet light and ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), 96-102.
- Bobo-García G., Arroqui C., Merino G. y Vírseda P. (2019). Antibrowning Compounds for Minimally Processed Potatoes: A Review. *Food Reviews International*, 1–18.
- Bokhari N. A., Siddiqui I., Siddique K. P. I., Rizwana H. y Soliman D. A. W. (2013). Management of anthracnose of banana by UV irradiation. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(4), pp. 1211-1214
- Bora S.J., Handique J., y Sit N. (2017). Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. *Ultrasonics Sonochemistry* 37: 445–451

- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. y Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- Brosnan T. y Sun D.W., (2004). Improving quality inspection of food products by computer vision—a review. *Journal of Food Engineering*, 61, 3–16.
- Buera M. P., Lozano R. D. y Petriella C. (1986). Definition of color in the non-enzymatic browning process. *Die Farbe*, 32/33: 316-326.
- Bugaud C., Daribo M. O. y Dubois C. (2007). Climatic conditions affect the texture and colour of *Cavendish* bananas (Grande Naine cultivar). *Scientia Horticulturae*, 113(3), 238-243.
- Bugaud C., Maraval I., Daribo M. O., Leclerc N. y Salmon F. (2016). Optimal and acceptable levels of sweetness, sourness, firmness, mealiness and banana aroma in dessert banana (*Musa* sp.). *Scientia Horticulturae*, 211, 399-409.
- Caivano J. L. y del Pilar Buera M. (2012). Color in food: technological and psychophysical aspects. CRC Press.
- Camarena-Gutiérrez G. (2006). Las especies reactivas de oxígeno en defensa de las plantas contra patógenos. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 12(1), 25-30.
- Campuzano A., Rosell C. M. y Cornejo F. (2018). Physicochemical and nutritional characteristics of banana flour during ripening. *Food Chemistry*, 256, 11-17.
- Candioti L. V., De Zan M. M., Cámara M. S. y Goicoechea H. C. (2014). Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*, 124, 123-138.
- Cano M. P., De Ancos B., Matallana M. C., Cámara M., Reglero G. y Tabera J. (1997) 'Differences among Spanish and Latin-American banana cultivars: Morphological, chemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 59(3), pp. 411–419.
- Cano P., Marín M. A. y Fuster C. (1990). Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana (*Musa cavendishii*, var enana). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(2), 223-231.
- Cao X., Cai C., Wang Y. y Zheng X. (2018). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, pp. 169-178.
- Casado-Vela J., Sellés S. y Bru R. (2005). Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* cv. Muchamiel). *Journal of Food Biochemistry*, 29(4), 381-401.
- Chandrapala J., Zisu B., Palmer M., Kentish S. y Ashokkumar M. (2012). Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 951–957.
- Chandrasekaran S., Ramanathan S. y Basak T. (2013). Microwave food processing: A review. *Food Research International*, 52(1), 243-261.

- Cheema S. y Sommerhalter M. (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataulfo mango. *Food Chemistry*, 171, 382-387.
- Chemat F., y Khan M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Chen C., Hu W., He Y., Jiang A., y Zhang R. (2016). Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 126-131.
- Chen K., Sun X., Qin Ch. y Tang X. (2010). Colour grading of beef fat by using computer vision and support vector machine. *Computers and Electronics in Agriculture*. 70, 27–32
- Cheng X. F., Zhang M. y Adhikari B. (2013). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(2), 674-679.
- Cheng, X., Zhang, M., y Adhikari, B. (2019). Impact of ultrasound and antioxidants on the quality of fresh-cut fruits: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 89, 16–27.
- Chisari M., Barbagallo R. N. y Spagna G. (2007). Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), 3469-3476.
- Cho J. S., Lee H. J., Park J. H., Sung J. H., Choi J. Y. y Moon K. D. (2016). Image analysis to evaluate the browning degree of banana (*Musa* spp.) peel. *Food Chemistry*, 194, 1028-1033.
- Christopoulos M. V. y Tsantili E. (2015). Participation of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in increased phenolic compounds in fresh cold stressed walnut (*Juglans regia* L.) kernels. *Postharvest Biology and Technology*, 104, 17-25.
- Ciro-Velásquez H. J. y Millán-Cardona L. D. J. (2012). Caracterización mecánica y físico-química del banano tipo exportación (*Cavendish valery*). *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- Clodoveo M.L. y Hachicha Hbaieb R. (2013). Beyond the traditional virgin olive oil extraction systems: Searching innovative and sustainable plant engineering solutions. *Food Research International*. 54, 1926-1933
- Closa S. J. y Landeta M.C. (2010). Tabla de Composición de Alimentos – *Argenfoods*. Universidad Nacional de Luján.
- Colamarino I. (2010). Producción de bananas. *Alimentos Argentinos*.
- Coronel P.M., Sastry S., Jun S., Salengke S., y Simunovic, J. (2009). Ohmic and microwave heating. *Engineering Aspects of Thermal Food Processing* (ed. R. Simpson), pp. 73–89. CRC Press, Taylor and Francis Group
- Cortez J. D., Faicán M. A., Pirovani M. E. y Piagentini A. M. (2018). Determinación de polifenoles en frutas con vitamina C incorporada: Metodología para mejorar la

especificidad del ensayo de Folin-Ciocalteu. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(2).

- Corzo-Martinez M., Corzo N., Villamiel M. y Del Castillo M. D. (2012). Browning reactions. *Food Biochemistry and Food Processing*, 4, 56.
- Costa M.G.M., Fonteles T.V., Jesus A.L.T., Almeida F.D.L., Miranda M.R.A., Fernandes F.A.N. y Rodrigues S. (2013). High-intensity ultrasound processing of pineapple juice. *Food Bioprocess Technology*, 6 997–1006.
- Coulibaly S., Nemlin G. J. y Kamenan A. (2007). Chemical Composition, Nutritive and Energetic Value of Plantain (*Musa ssp.*) Hybrids CRBP 4, CRBP 39, FHIA 7 , FHIA 2 and Orishele Variety. *Tropical Agriculture*, pp. 2–6.
- Crumière F. (2000). Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients. Mc Gill University Vol. 104, Montreal, Canada.
- Cubero S., Aleixos N., Moltó E., Gómez-Sanchis J. y Blasco J. (2011). Advances in machine vision applications for automatic inspection and quality evaluation of fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 487-504.
- Cullen P.J., Tiwari B. K. y Valdramidis V. P. (2012). Status and Trends of Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*. Academic Press, 2012, pp. 1-6
- Darsini D., Maheshu V., Vishnupriya M. y Sasikumar J. M. (2012). In vitro antioxidant activity of banana (*Musa spp.* ABB cv. Pisang Awak). *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 49, pp. 124-129.
- De São José J. F. B., de Andrade N. J., Ramos A. M., Vanetti M. C. D., Stringheta P. C., y Chaves J. B. P. (2014). Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control*, 45, 36-50.
- Denoya G. I., Ardanaz M., Sancho A. M., Benítez C. E., Gonzáles C. y Guidz S. (2012). Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Conicet, 38(3),263-267
- Díaz A., Cayón G. y Mira J. J. (2007). Metabolismo del calcio y su relación con la "mancha de madurez" del fruto de banana. *Agronomía Colombiana*, 25(2), 280-287.
- Dibanda R. F., Akdowa E. P. y Tongwa Q. M. (2020). Effect of microwave blanching on antioxidant activity, phenolic compounds and browning behaviour of some fruit peelings. *Food Chemistry*, 302, 125308.
- Ding P. y Ling Y. S. (2014). Browning assessment methods and polyphenol oxidase in UV-C irradiated Berangan banana fruit. *International Food Research Journal*, 21: 4.
- Ding P., Ahmad S. H., Razak A. R. A., Saari N. y Mohamed M. T. M. (2007). Plastid ultrastructure, chlorophyll contents, and colour expression during ripening of cavendish banana (*Musa acuminata* 'Williams') at 18° C and 27° C. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35(2), 201-210.

- Dussán-Sarria S., Rivera M. C. y García-Mogollon C. A. (2020). Almacenamiento refrigerado de piña mínimamente procesada. Cambios en atributos físico-químicos y sensoriales. *Información tecnológica*, 31(2), 11-18.
- Ebrahim H., Youssef K., El-Shamei Z. y Omran H. (2016). Properties and total initial activities of three oxidative enzymes isolated from some fruits and vegetables grown in Egypt. *Suez Canal University Journal of Food Sciences*, 3(1), 9-18.
- Englberger L., Darnton-Hill I., Coyne T., Fitzgerald M. H. y Marks G. C. (2003). Carotenoid-rich bananas: a potential food source for alleviating vitamin A deficiency. *Food and Nutrition Bulletin*, 24(4), 303-318.
- Enyedi A. J., Yalpani N., Silverman P. y Raskin I. (1992). Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. *Cell*, 70(6), 879-886.
- Ermini J. L., Tenaglia G. C. y Pratta G. R. (2018). Molecular diversity in selected banana clones (*Musa* AAA "Cavendish"): adapted to the subtropical environment of Formosa Province (Argentina). Repositorio INTA.
- Escalante-Minakata, P., Ibarra-Junquera, V., de Jesús Ornelas-Paz, J., García-Ibáñez, V., Virgen-Ortíz, J. J., González-Potes, A., ... y Orozco-Santos, M. (2018). Comparative study of the banana pulp browning process of 'Giant Dwarf' and FHIA-23 during fruit ripening based on image analysis and the polyphenol oxidase and peroxidase biochemical properties. *3 Biotech*, 8(1), 30.
- Esehaghbeygi A., Pirnazari K. y Sadeghi M. (2014). Quality assessment of electrohydrodynamic and microwave dehydrated banana slices. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), 565-571.
- Eskin N. A. M. y Hoehn E. (2013). Fruits and Vegetables. *Biochemistry of Foods*, 49–126.
- Etzbach, L., Pfeiffer, A., Schieber, A., y Weber, F. (2019). Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) puree. *LWT - Food Science and Technology*, 100, 69–74.
- Faller, A. L. K. y Fialho, E. (2010) 'Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods', *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), pp. 561–568.
- FAOSTAT, F. A. O. (2019). Statistical databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fernandes S. O. y Bonaldo S. M. (2011). Anthracnose (*Colletotrichum musae*) control and conservation in post-harvest dwarf banana in Northern Mato Grosso. *Enciclopedia Biosfera*, 7(13), 237-247.
- Ferreira T. y Rasband W. (2012). ImageJ user guide. ImageJ/Fiji, 1, 155-161.
- Fonteles T. V., Leite A. K. F., Silva A. R. A., Carneiro A. P. G., de Castro Miguel E., Cavada B. S. y Rodrigues S. (2016). Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and in vitro bioaccessibility of bioactive compounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 237-249.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2019). Production data for banana and plantains: 2007-2008. Disponible en: <http://faostat.fao.org/>.
- Forster M. P., Rodríguez Rodríguez E. y Díaz Romero C. (2002). Differential characteristics in the chemical composition of bananas from tenerife (Canary Islands) and Ecuador. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26), pp. 7586–7592.
- Fu L., Xu B. T., Xu X. R., Gan R. Y., Zhang Y., Xia E. Q., Li H. B. (2011). Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 62 Fruits. *Food Chemistry* 129(2): 345–50.
- Gandhi K. D., Faldu P. R., Patel K. G., Solanki V. H., Kansara R. V., Singh S. y Vyas T. K. (2018). Plant Polyphenol Oxidase: Biochemical Properties and Browning of Fruits and Vegetables. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 31(1), 1-8.
- Ganjloo A., Rahman R. A., Osman A., Bakar J. y Bimakr M. (2011). Kinetics of crude peroxidase inactivation and color changes of thermally treated seedless guava (*Psidium guajava* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1442-1449.
- García C. L., Giraldo G. A., Hurtado H. y Mendivil C. O. (2006). Cinética enzimática del polifenol oxidasa del banano gros michel en diferentes estados de maduración. *Vitae*, 13(2), 13-19.
- Garziglia L. (2017). Ante las importaciones, productores bananeros de Formosa piden apoyo al sector. *El Enfiteuta*. Recuperado de: <http://elenfiteuta.com/2305175impo-bananeros-formosa/>
- Gawlik-Dziki U., Złotek U. y Świeca M. (2008). Characterization of polyphenol oxidase from butter lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata L.). *Food Chemistry*, 107(1), 129-135.
- Ghidelli C., Rojas-Argudo C., Mateos M. y Pérez-Gago M. B. (2013). Effect of antioxidants in controlling enzymatic browning of minimally processed persimmon 'Rojo Brillante'. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 487-493.
- Goicoechea H. C. (2018). Experimental Design. En Siddiqi, K. S., y Nollet, L. M. *Fingerprinting Techniques in Food Authentication and Traceability*. CRC Press.
- Gomes J. F. S., Vieira R. R. y Leta F. R. (2013). Colorimetric indicator for classification of bananas during ripening. *Scientia Horticulturae*, 150, 201-205.
- Gomes J. F. S., Vieira R. R., de Oliveira I. A. A. y Leta F. R. (2014). Influence of illumination on the characterization of banana ripening. *Journal of Food Engineering*, 120, 215-222.
- Gómez P. L., Alzamora S. M., Castro M. A. y Salvatori D. M. (2010). Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: Microorganism, color and compression behavior. *Journal of Food Engineering*, 98(1), 60-70.
- Goñi S. M. y Salvadori V. O. (2017). Color measurement: comparison of colorimeter vs. computer vision system. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 538-547.
- González-Cebrino, F., Durán, R., Delgado-Adámez, J., Contador, R., y Bernabé, R. R. (2016). Impact of high pressure processing on color, bioactive compounds,

- polyphenol oxidase activity, and microbiological attributes of pumpkin purée. *Food Science and Technology International*, 22(3), 235-245.
- Gooding P. S., Bird C. y Robinson S. P. (2001). Molecular cloning and characterisation of banana fruit polyphenol oxidase. *Planta*, 213, 748-757.
- Granato D., y Masson M. L. (2010). Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. *Food Science and Technology*, 30(4), 1090-1096.
- Greenfield H., y Southgate D. A. T. (2006). Datos de composición de alimentos: obtención, gestión y utilización. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y4705s.pdf>
- Guerrero S. (1993). Desarrollo de una tecnología de factores combinados para preservar puré de banana de alta humedad. Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Guerrero-Beltran J. A., Swanson B. G. y Barbosa-Cánovas G. V. (2005). Inhibition of polyphenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 38(6), 625-630.
- Guessan, A. A. N., Olivier, K., y Gonnety, J. T. (2018). Effect of chemical and thermal treatments on browning inhibition of senescent plantain (*Musa paradisiaca*) puree for semolinas preparation. *American Journal of Biochemistry*, 8(4), 75-84.
- Guiné P.F.R. y Barroca J.M. (2014). Evaluation of the browning kinetics for bananas and pears submitted to convective drying. *Current Biochemical Engineering*, 1(2), 165-172.
- Gulcin İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Guo Q., Sun D. W., Cheng J. H. y Han Z. (2017). Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 236-247.
- Gutiérrez, D. R., Martínez, E. J., y Alzamora, S. M. (2020). Combined treatments to improve the quality and shelf-life of fresh-cut fruits. *Journal of Food Quality*.
- Haarer A. E. y Esaín Escobar J. (1966). Producción moderna de bananas.
- Hacısevkd A. (2009). An overview of ascorbic acid biochemistry. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 38(3), 233-255.
- Hapsari L. y Lestari D. A. (2016). Fruit characteristic and nutrient values of four Indonesian banana cultivars (*Musa spp.*) at different genomic groups. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 38(3), 303-311.
- Hebbbar H. U. y Rastogi N. K. (2012). Microwave heating of fluid foods. In *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. Food Science and Technology International Series, Academic Press*. (pp. 369-409)
- Hernández F. A., Giménez E. A., Gómez P. y Artés F. (2009). Productos vegetales mínimamente procesados o de la "cuarta gama". *Horticultura Internacional*, (69), 52-57.

- Herrera-Martínez S. L., Mora-Herrera M. E., García-Velasco R., Gomora-Rasso J. y Rogel-Millán G. (2013). Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa de plantas de rosal. *Terra Latinoamericana*, 31(3), 193-199
- Hinds L., O'Donnell C. P., Akhter M. y Tiwari B. K. (2019). Principles and mechanisms of ultra violet light emitting diode technology for food industry applications. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 56, 102-153
- Holzwarth M., Wittig J., Carle R. y Kammerer D. R. (2013). Influence of putative polyphenoloxidase (PPO) inhibitors on strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) PPO, anthocyanin and color stability of stored purées. *LWT-Food Science and Technology*, 52(2), 116-122.
- Hough G. y Fiszman S. (2005). Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. CYTED. Madrid. España, 111.
- Huang, H., Zhu, Q., Zhang, Z., Yang, B., Duan, X., y Jiang, Y. (2014). Effect of oxalic acid on antibrowning of banana (*Musa* spp., AAA group, cv. 'Brazil') fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 160, 208-212.
- Hussein J. B., Sanusi M. S. y Filli K. B. (2016). Evaluation of drying methods on the content of some bio-actives (lycopene, β -carotene and ascorbic acid) of tomato slices. *African Journal of Food Science*, 10(12), pp. 359-367.
- International Commission on Illumination. (2004). Libro blanco de la gestión del color 3. Espacios de color y conversión de colores. 3. Francia. Retrieved August 15, 2014, from https://www.lacie.com/download/whitepaper/wp_colormanagement_3_es.pdf
- Ioannou I. y Ghoul M. (2013). Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *European Scientific Journal*, vol.9, No.30 pp. 310-341
- Iqbal A., Murtaza A., Hu W., Ahmad I., Ahmad A. y Xu X. (2019). Activation and inactivation mechanisms of polyphenol oxidase during thermal and non-thermal methods of food processing. *Food and Bioproducts Processing*. Vol. 117, pp. 170-182
- Irtwange S. V. (2006). Keeping Freshness in Fresh-Cut: Horticultural Produce. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*. Invited Overview No. 6. Vol. VIII.
- Jang J. H. y Moon K. D. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chemistry*, 124(2), 444-449.
- Janiszewska-Turak, E., Sitkiewicz, I., y Janowicz, M. (2024). Influence of Ultrasound on the Rheological Properties, Color, Carotenoid Content, and Other Physical Characteristics of Carrot Puree. *Applied Sciences*, 14(22), 10466.
- Jeske L., Placzek S., Schomburg I., Chang A. y Schomburg, D. (2019). BRENDA in 2019: a European ELIXIR core data resource. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D542-D549.
- Jiang Y., Duan X., Qu H. y Zheng S. (2016). Enzymatic browning inhibition and antioxidant activity of pear juice from a new cultivar of asian pear (*Pyrus pyrifolia*

Nakai cv. Sinhwa) with different concentrations of ascorbic acid. *Food Science and Biotechnology*, Vol. 25, pp. 153–158.

- Jiménez-Sánchez C., Lozano-Sánchez J., Segura-Carretero A. y Fernández-Gutiérrez A. (2017). Alternatives to conventional thermal treatments in fruit-juice processing. Part 2: Effect on composition, phytochemical content, and physicochemical, rheological, and organoleptic properties of fruit juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3), 637-652.
- Juarez-Enriquez, E., Salmerón, I., Gutierrez-Mendez, N., y Ortega-Rivas, E. (2016). Ultraviolet irradiation effect on apple juice bioactive compounds during shelf storage. *Foods*, 5(1), 10.
- Kader A. A., Pelayo-Zaldivar C., Adaskaveg J. E., Arpaia M. L., Barrett D. M., Bruhn C. M., ... y Forster H. (2007). Tecnología postcosecha de cultivos: Hortofrutícolas. Universidad de California, California (EUA)..
- Kaewjumpol G., Srisamlee S., Beckles D. M. y Luengwilai K. (2021). Enzymatic browning in banana blossoms and techniques for its reduction. *Horticulturae*, 7(10), 373.
- Kasnak C. (2020). Effects of anti-browning treatments on the polyphenol oxidase and antioxidant activity of fresh-cut potatoes by using response surface methodology. *Potato Research*, 63(3), 417-430.
- Kaya Z., Semanur Y. y Unluturk S. (2015). Effect of UV-C-C irradiation and heat treatment on the shelf life of a lemon-melon juice blend: multivariate statistical approach. *Innovative Food Science & Emerging*, 29, 230–239.
- Ke D. y Saltveit M. E. (1988). Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. *Plant Physiology*, 88(4), 1136-1140.
- Kepner C. D. (1936). Social aspects of the banana industry. Columbia University Press.
- Kernou O. N., Belbahi A., Kaanin-Boudraa G., Adel K. y Madani P. K. (2022). A Review: Ultrasound-Microwave Technologies as Alternative Methods for Inactivation Bacterias in Fruit Juice. *International Journal of Analytical and Applied Chemistry*, 8, 31-40.
- Kheng T. Y., Ding P. y Abdul Rahman N. A. (2012). Determination of optimum harvest maturity and physico-chemical quality of Rastali banana (*Musa* AAB Rastali) during fruit ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 171-176.
- Klug T. V., Collado E., Martínez-Sánchez A., Gómez P. A., Aguayo E., Otón M. y Artés-Hernandez F. (2018). Innovative quality improvement by continuous microwave processing of a faba beans pesto sauce. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 561-571.
- Krishna Teja, C., Shivashankar Sanganamoni, B. Prabhakar y Pavuluri Srinivasa Rao. 2017. Effect of UV– C Light Treatment on Physicochemical and Bioactive Compounds in Apple and Pineapple Juices. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6(6): 2321-2333.
- Kumar S., Kumar R., Nambi V. E. y Gupta R. K. (2014). Postharvest changes in antioxidant capacity, enzymatic activity, and microbial profile of strawberry fruits

treated with enzymatic and divalent ions. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 2060-2070.

- Landi M., Degl'Innocenti E., Guglielminetti L. y Guidi L. (2012). Role of ascorbic acid in the inhibition of polyphenol oxidase and the prevention of browning in different browning-sensitive *Lactuca sativa* var. capitata (L.) and *Eruca sativa* (Mill.) stored as fresh-cut produce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 1814-1819.
- Laurentin A. y Edwards C. A. (2003). A microtiter modification of the anthrone-sulfuric acid colorimetric assay for glucose-based carbohydrates. *Analytical biochemistry*, 315(1), 143-145.
- Leardi, R. (2009). Experimental design in chemistry: A tutorial. *Analytica chimica acta*, 652(1-2), 161-172.
- Leatherdale D. (2016). De dónde vienen las bananas y cómo el mal de Panamá está acabando con ellas. BBC News. Disponible en: http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/01/160124_banana_hongo_extincion_il_m
- Lee H. y Feng H. (2011). Effect of power ultrasound on food quality. *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 559-582). Springer, New York, NY.
- Lee M. K. (2007). Inhibitory effect of banana polyphenol oxidase during ripening of banana by onion extract and Maillard reaction products. *Food Chemistry*, 102(1), 146-149.
- León K., Mery D., Pedreschi F., Leon J. (2006) Color measurement in L*a*b* b units from RGB digital image, *Food Research International* 39(10): 1084-1091
- Lichtemberg, L. A. (1999). Colheita e pós-colheita da banana. *Informe Agropecuário*. Vol. 20, N° 196, p. 73-90.
- Liew C. Y. y Lau C. Y. (2012). Determination of quality parameters in Cavendish banana during ripening by NIR spectroscopy. *International Food Research Journal*, 19(2): 751-758.
- Lim Y. Y., Lim T. T. y Tee J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, 103(3), pp. 1003–1008.
- Limbo S. y Piergiovanni L. (2006). Shelf life of minimally processed potatoes: Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest biology and technology*, 39(3), 254-264.
- Li-Qin Z., Jie Z., Shu-Hua Z. y Lai-Hui G. (2009). Inhibition of browning on the surface of peach slices by short-term exposure to nitric oxide and ascorbic acid. *Food chemistry*, 114(1), 174-179.
- Liu B., Fan X., Shu C., Zhang W. y Jiang W. (2019). Comparison of non-contact blanching and traditional blanching pretreatment in improving the product quality, bioactive compounds, and antioxidant capacity of vacuum-dehydrated apricot. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), e13890.

- Liu P., Mujumdar A. S., Zhang M. y Jiang H. (2015). Comparison of three blanching treatments on the color and anthocyanin level of the microwave-assisted spouted bed drying of purple flesh sweet potato. *Drying Technology*, 33(1), 66-71.
- Liu S., Liu Y., Huang X., Yang W., Hu W., Pan S., (2017). Effect of ultrasonic processing on the changes in activity, aggregation and the secondary and tertiary structure of polyphenol oxidase in oriental sweet melon (*Cucumis melo* var. Makuwa Makino). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97, 1326–1334
- Liu X., Yang Q., Lu Y., Li Y., Li T., Zhou B. y Qiao L. (2019). Effect of purslane (*Portulaca oleracea* L.) extract on anti-browning of fresh-cut potato slices during storage. *Food Chemistry*, 283, 445-453.
- Lobo M. G. y Fernández Rojas J. F. (2020). Biology and Postharvest Physiology of Banana. *Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition*, 19-44.
- Lobo, M. G., y Montero-Calderón, M. (2020). Harvesting and postharvest technology of banana. *Handbook of banana production, postharvest science, processing technology, and nutrition*, 61-80.
- López G. A. R., Qüesta A. G. y Rodríguez S. D. C. (2010). Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1), 101-108.
- López-Miranda S., Hernández-Sánchez P., Serrano-Martínez A., Hellín P., Fenoll J. y Núñez-Delicado E. (2011). Effect of ripening on protein content and enzymatic activity of Crimson Seedless table grape. *Food Chemistry*, 127(2), 481-486.
- Loredo A. B. G., Guerrero S. N., Gomez P. L. y Alzamora S. M. (2013). Relationships between rheological properties, texture and structure of apple (*Granny Smith* var.) affected by blanching and/or osmotic dehydration. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 475-488.
- Lunadei L., Galleguillos P., Diezma B., Lleó L. y Ruiz-Garcia L. (2011). A multispectral vision system to evaluate enzymatic browning in fresh-cut apple slices. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 225–234.
- Ly Nguyen B., Van Loey A., Fachin D., Verlent I. y Hendrickx I. M. (2002). Purification, characterization, thermal, and high-pressure inactivation of pectin methylesterase from bananas (cv Cavendish). *Biotechnology and Bioengineering*, 78(6), 683–691.
- MacDonald L. y Schaschke C. J. (2000). Combined effect of high pressure, temperature and holding time on polyphenoloxidase and peroxidase activity in banana (*Musa acuminata*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 719-724.
- MacDougall D. B. (2010). Colour measurement of food: principles and practice. *Colour Measurement* (pp. 312-342). Woodhead Publishing.
- Maduwanthi S. D. T. y Marapana R. A. U. J. (2019). Comparative study on aroma volatiles, organic acids, and sugars of Ambul banana (*Musa acuminata*, AAB) treated with induced ripening agents. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-9.
- Mahanil S., Attajarusit J., Stout M. J. y Thipyapong P. (2008). Overexpression of tomato polyphenol oxidase increases resistance to common cutworm. *Plant Science*, 174(4), 456-466.

- Manzocco L., Da Pieve S., Bertolini A., Bartolomeoli I., Maifreni M., Vianello A. y Nicoli, M. C. (2011). Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2-3), 165-171.
- Manzocco L., Kravina G., Calligaris S. y Nicoli M. C. (2008). Shelf life modeling of photosensitive food: The case of colored beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5158–5164.
- Marinova G. y Batchvarov V. (2011). Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 11-24.
- Marshall M. R., Kim J. y Wei C. (2000). Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods. *FAO, Rome*, 49.
- Marszałek K., Mitek M. y Skąpska S. (2015). The effect of thermal pasteurization and high-pressure processing at cold and mild temperatures on the chemical composition, microbial and enzyme activity in strawberry purée. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 27: 48–56
- Mascarenhas G. C. C. (1999). Banana: Comercializacao. Vol. 20, N° 196, p. 97-108.
- Maskan M. (2000). Microwave/air and microwave finish drying of banana. *Journal of Food Engineering*, 44(2), 71-78.
- Mawson R., Gamage M., Terefe N. S. y Knoerzer K. (2011). Ultrasound in enzyme activation and inactivation. *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (pp. 369-404). New York, NY: Springer New York.
- Mayer A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331.
- Mazacotte V., F. Scribano y F. Cardozo (2011). Estudio sobre antecedentes históricos y situación actual del cultivo de banana (*Musa paradisiaca*) en la Provincia de Formosa (Argentina). Primer Congreso Internacional del cultivo de banano. IPAF NEA. 29 p.
- Mendoza F. y Aguilera J. M. (2004). Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69(9), E471-E477.
- Menezes E. W., Tadini C. C., Tribess T. B., Zuleta A., Binaghi J., Pak N., Vera G., Dan M. C. T., Bertolini A. C., Cordenunsi B. R. y Lajolo F. M. (2011). Chemical Composition and Nutritional Value of Unripe Banana Flour (*Musa acuminata*, var. Nanicao). *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3), pp. 231–237.
- Mercado Central de Bs. As. (28 febrero, 2024). Recuperado de: <https://mercadocentral.gob.ar/news/banana-la-fruta-m%C3%A1s-elegida-por-los-argentinos>
- Mesa-Vanegas A. M., Zapata-Uribe S., Arana L. M., Zapata I. C., Monsalve Z. y Rojano B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(1), 1-10.

- Mesquita V. L. V. y Queiroz C. (2013). Enzymatic browning. *Biochemistry of Foods*, 387-418.
- Milani A., Jouki, M. y Rabbani M. (2020). Production and characterization of freeze-dried banana slices pretreated with ascorbic acid and quince seed mucilage: Physical and functional properties. *Food Science y Nutrition*, 8(7), 3768-3776.
- Ministerio de la Producción y Ambiente de Formosa (2011). Censo bananero.
- Minitab, LLC. (2021). *Minitab*. Retrieved from <https://www.minitab.com>
- Mohamed N. T. S., Ding P., Ghazali H. M. y Kadir J. (2017). Biochemical and cell wall ultrastructural changes in crown tissue of banana (*Musa AAA 'Berangan'*) fruit as mediated by UVC irradiation against crown rot fungal infection. *Postharvest Biology and Technology*, 128, 144-152.
- Mohapatra D., Mishra S., Singh C. B. y Jayas D. S. (2011). Post-harvest processing of banana: opportunities and challenges. *Food and Bioprocess Technology*, 4(3),
- Molina N. A., Scribano F. R., Tenaglia G. C. y Rodriguez D. (2016). Análisis técnico y económico para la producción de banana y mango en Formosa.
- Moline H. E., Buta, J. G. y Newman I. M. (1999). Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivatives. *Journal of Food Quality*, 22(5), 499-511.
- Moraes W. D. S., Zambolim L., Lima J. D., Salomão L. C. y Cecon P. (2008). Termoterapia de banana 'Prata-Anã' no controle de podridões em pós-colheita. *Fitopatologia Brasileira*, 30(6), 603-608.
- Morales-Blancas E. F., Chandia V. E. y Cisneros-Zeballos L. (2002). Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from Broccoli, Green Asparagus and Carrots. *Journal of Food Science*, 67(1), 146–154.
- Morante Carriel J., Agnieszka-Obrebska A., Bru-Martínez R., Carranza Patiño M., Pico-Saltos R. y Nieto Rodriguez E. (2014). Distribución, localización e inhibidores de polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*. 7 (1): 23-31
- Moscetti R., Raponi F., Monarca D., Bedini G., Ferri S. y Massantini R. (2018). Effects of hot-water and steam blanching of sliced potato on polyphenol oxidase activity. *International Journal of Food Science y Technology*, 54(2), 403–411.
- Mozombite Tello L. A. M. (2019). Caracterización botánica y evaluación preliminar del rendimiento en tres ecotipos de *Musa paradisiaca* L. Universidad Nacional de San Martín. Repositorio digital.
- Mustafa N.B.A., Fuad N.A., Ahmed S.K., Abidin A.A.Z., Ali Z., Yit W.B. y Sharif, Z.A.M. (2008). Image processing of an agriculture produce: determination of size and ripeness of a Banana. International Symposium on Information Technology 2008(ITSim), Kuala Lumpur, Malaysia (pp. 1–7).
- Nadeem M., Ubaid N., Qureshi T. M., Munir M. y Mehmood A. (2018). Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. *Ultrasonics sonochemistry*, 45, 1-6.

- Nagle, N. E., y Haard, N. F. (1975). Fractionation and characterization of peroxidase from ripe banana fruit. *Journal of Food Science*, 40(3), 576–579.
- Nagvanshi S., Venkata S. K. y Goswami T. K. (2020). Study of color kinetics of banana (*Musa cavendish*) under microwave drying by application of image analysis. *Food Science and Technology International*, 27(7), 660-673.
- Ngadi M. O., Bajwa S. S. y Alakali J. (2012). Minimally processed foods. *Food Biochemistry and Food Processing*, 746-763.
- Nguyen T. B. T., Ketsa S. y Van Doorn W. G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 30(2), 187-193.
- Niki E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
- Noci, F., Riener, J., Walkling-Ribeiro, M., Cronin, D. A., Morgan, D. J., y Lyng, J. G. (2008). Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *Journal of food engineering*, 85(1), 141-146.
- O'Sullivan M.G., Byrne D.V., Martens H., Gidskehaug L.H., Andersen H.J. y Martens M. (2003). Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat science*. 65, 909–918
- Oh, M. M., Carey, E. E., y Rajashekar, C. B. (2009). Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(7), 578-583.
- Ojeda, G. A., Sgroppo, S. C., y Zaritzky, N. E. (2014). Application of edible coatings in minimally processed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.) to prevent enzymatic browning. *International journal of food science y technology*, 49(3), 876-883.
- Olaniyi J. I. (2017). Microwave heating in food processing. *BAOJ Nutrition*, 3, 1-9.
- Olaniyi M. B., Olaniyi A. A., Alawode R. A. y Ogunbamowo P. O. (2024). Roles of some Innovative Non-Thermal Processing Techniques on Food Quality and Safety. *Proceedings of the Faculty of Agriculture International Conference* (pp. 423-428).
- Olivas G. I., Mattinson D. S. y Barbosa-Cánovas G. V. (2007). Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Postharvest biology and technology*, 45(1), 89-96.
- Oms-Oliu G., Rojas-Graü M. A., González L. A., Varela P., Soliva-Fortuny R., Hernando M. I. H. ... y Martín-Belloso O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 57(3), 139-148.
- Otto C., Zahn S., Rost F., Zahn P., Jaros D. y Rohm H. (2011). Physical methods for cleaning and disinfection of surfaces. *Food Engineering Reviews*, 3, 171e188.
- Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

- Özoğlu H. y Bayındırlı A. (2002). Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food control*, 13(4-5), 213-221.
- Palma G. (2010). Caracterización de la polifenol oxidasa del mamey (*Pouteria sapota*) y control del oscurecimiento enzimático. Ph.D. Ciencias químico-biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D.F. 74 p
- Palmer J K (1971) Banana. *Biochemistry of Fruits and their Products*, Vo12, ed Hulme A C. Academic Press, London, pp 65-92.
- Palou, E., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. V., Welti-Chanes, J., y Swanson, B. G. (1999). Polyphenol oxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of food science*, 64(1), 42-45.
- Pareek S. (2016). Nutritional and Biochemical Composition of Banana (*Musa* spp.) Cultivars. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, pp. 49–78.
- Parzanese M. (2012). Vegetales mínimamente procesados. *Alimentos Argentinos*, 55,
- Pathare P. B., Opara U. L. y Al-Said F. A. J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and bioprocess technology*, 6(1), 36-60.
- Patist A. y Bates D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. *Innovative food science & emerging technologies*. 9:147–54
- Peng X., Du C., Yu H., Zhao X., Zhang X. y Wang X. (2019). Purification and characterization of polyphenol oxidase (PPO) from water yam (*Dioscorea alata*). *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 676-684.
- Perez-Gago M. B., Serra, M. Alonso M., Mateos M. y Del Río M. A. (2005). Effect of whey protein-and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 36(1), 77-85.
- Pérez-Grijalva B., Herrera-Sotero M., Mora-Escobedo R., Zebadúa-García J. C., Silva-Hernández E., Oliart-Ros R. y Guzmán-Gerónimo R. (2018). Effect of microwaves and ultrasound on bioactive compounds and microbiological quality of blackberry juice. *LWT* 87, 47-53.
- Persic M., Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A. y Veberic R. (2017). Chemical composition of apple fruit, juice and pomace and the correlation between phenolic content, enzymatic activity and browning. *LWT-Food Science and Technology*, 82, 23-31.
- Pertuzatti P. B., Barcia M. T., Rodrigues D., da Cruz P. N., Hermosín-Gutiérrez I., Smith R., y Godoy H. T. (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food Chemistry*, 164, 81-88.
- Piagentini A. M., y Pirovani M. E. (2017). Total phenolics content, antioxidant capacity, physicochemical attributes, and browning susceptibility of different apple cultivars for minimal processing. *International Journal of Fruit Science*, 17(1), 102-116.
- Piagentini A., Martín L., Bernardi C., Güemes D. y Pirovani M. (2012). Color Changes in Fresh-Cut Fruits as A ected by Cultivar, Chemical Treatment, and Storage Time and Temperature. In *Color in Food* (pp. 288-295). CRC Press.

- Picouet P. A., Landl A., Abadias M., Castellari M. y Viñas I. (2009). Minimal processing of a Granny Smith apple purée by microwave heating. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 10(4), 545-550.
- Pillay, M., y Tenkouano, A. (2011). Banana breeding: Progress and challenges. Boca Raton, FL: CRC Press
- Piña G., Laborem Escalona G., Surga J., Marín C., Rangel L., Espinoza M. y Delgado A. (2006). Atributos de calidad en frutos de híbridos FHIA (*Musa*) para tres ciclos de cosecha. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(4), 429-447.
- Pongprasert N., Sekozawa Y., Sugaya S., et al. (2011). A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage, browning and chlorophyll degradation) in banana peel. *Scientia Horticulturae* 130(1): 73–77
- Prabha S. D. y Kumar S.J. (2015). Assessment of banana fruit maturity by image processing technique. *Journal of food science and technology*, 52, 1316-1327.
- Premakumar K. y Khurdiya D. S. (2002). Effect of microwave blanching on the nutritional qualities of banana puree. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-MYSORE*-, 39(3), 258-260.
- Premakumar K., Khurdiya D.S. y Kumarasiri U.W.L.M. (2018). Nutritional quality analyze of banana puree produced by microwave balanching. *International Journal of Research Publications (IJRP.ORG)*
- Purwanto Y. A. y Effendi R. N. (2016). Penggunaan asam askorbat dan lidah buaya untuk menghambat pencoklatan pada buah potong apel malang. *Jurnal Keteknikaan Pertanian*, 4(2).
- Queiroz C., Ribeiro da Silva A., Mendes Lopes M., Fialho E. y Valente-Mesquita V. (2011) Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. *Food Chemistry*, 125, 128–132.
- Quevedo R., Díaz O., Ronceros B., Pedreschi F. y Aguilera J. M. (2009). Description of the kinetic enzymatic browning in banana (*Musa cavendish*) slices using non-uniform color information from digital images. *Food Research International*, 42(9), 1309-1314.
- Quevedo R., Mendoza F., Aguilera J.M., Chanona J. y Gutierrez-Lopez G. (2008) Determination of senescent spotting in banana (*Musa cavendish*) using fractal texture fourier image. *Journal of Food Engineering* 84:509–515.
- Rahn R. O. (1997). Potassium iodide as a chemical actinometer for 254 nm radiation: use of Iodate as an electron scavenger. *Photochemistry and Photobiology*, 66(4), 450-455.
- Rana S. S., Pradhan R. C. y Mishra S. (2018). Optimization of chemical treatment on fresh cut tender jackfruit slices for prevention of browning by using response surface methodology. *International food research journal*, 25(1)
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. y Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

- Reginio Jr F. C., Qin W., Ketnawa S. y Ogawa Y. (2020). Bio-properties of Saba banana (Musa 'saba', ABB Group): Influence of maturity and changes during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Scientific Reports*, 10(1), 6701.
- Ribeiro L. O., Brígida A. I. S., Sá D. D. G. C. F., Carvalho C. W. P., Silva J. P. L., Matta V. M. y Freitas S. P. (2019). Effect of sonication on the quality attributes of juçara, banana and strawberry smoothie. *Journal of food science and technology*, 56, 5531-5537.
- Ribeiro L.O., Santos J.G.C., Gomes F.S., Cabral L.M.C., Sá D.G.C.F., Matta V.M., Freitas S.P. (2017). Sensory evaluation and antioxidant capacity as quality parameters in the development of a banana, strawberry and juçara smoothie. *Food Science and Technology*. 2018;38:653–660.
- Richard F. C., Goupy P. M., Nicolas J. J., Lacombe J. M. y Pavia A. A. (1991). Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. Isolation and characterization of addition compounds formed during oxidation of phenolics by apple polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(5), 841-847.
- Richard-Forget F. C. y Gaillard F. A. (1997). Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2472-2476.
- Rico D., Martin-Diana A. B., Barat J. M. y Barry-Ryan C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science y Technology*, 18(7), 373-386.
- Rios-Romero E. A., Ochoa-Martínez L. A., Morales-Castro J., Bello-Pérez L. A., Quintero-Ramos A., y Gallegos-Infante J. A. (2018). Ultrasound in orange sweet potato juice: Bioactive compounds, antioxidant activity, and enzymatic inactivation. *Journal of food processing and preservation*, 42(6), e13633.
- Rivera-Pastrana D. M., Gardea A. A., Yahia E. M., Martínez-Téllez M. A. y González-Aguilar G. A. (2014). Effect of UV-C irradiation and low temperature storage on bioactive compounds, antioxidant enzymes and radical scavenging activity of papaya fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 3821-3829.
- Rivero R. M., Ruiz J. M., Garcia P. C., Lopez-Lefebvre L. R., Sánchez E. y Romero L. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, 160(2), 315-321.
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. y Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66, 401–436
- Robinson J. C. y Galán Saúco V. (2012). Plátanos y bananas. Editorial Paraninfo.
- Rocculi P., Galindo F. G., Mendoza F., Wadsö L., Romani S., Dalla Rosa M. y Sjöholm I. (2007). Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 151-157.

- Rocha A. M. C. N. y Morais A. M. M. B. (2002). Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(1), 120-126.
- Rojas, M. L., Kubo, M. T. K., Caetano-Silva, M. E., y Augusto, P. E. D. (2021). Ultrasound processing of fruits and vegetables, structural modification and impact on nutrient and bioactive compounds: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4376–4395.
- Rojas-Graü M. A., Soliva-Fortuny R., y Martín-Belloso O. (2008). Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut Fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *Journal of Food Science*, 73(6), S267-S272.
- Ruiz López G. A., Qüesta A. G. y Rodríguez S. D. C. (2010). Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1), 101-108.
- Saltveit M. E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest biology and technology*, 21(1), 61-69.
- Salvador A., Sanz T. y Fiszman S. M. (2007). Changes in colour and texture and their relationship with eating quality during storage of two different dessert bananas. *Postharvest biology and technology*, 43(3), 319-325.
- Sarawong C., Schoenlechner R., Sekiguchi K., Berghofer E., Ng P. K.W. (2014). Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food Chemistry*, 143, pp. 33–39.
- Sarpong F., Yu X., Zhou C. et al. (2018). Influence of anti-browning agent pretreatment on drying kinetics, enzymes inactivation and other qualities of dried banana (*Musa* ssp.) under relative humidity-convective air dryer. *Food Measure* 12, 1229–1241.
- Schieber A. (2018). Reactions of Quinones – Mechanisms, Structures, and Prospects for Food Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66, 50, 13051–13055
- Schneider C. A., Rasband W. S. y Eliceiri K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7), 671-675.
- Schomburg I., Jeske L., Ulbrich M., Placzek S., Chang A. y Schomburg, D. (2017). The BRENDA enzyme information system—From a database to an expert system. *Journal of biotechnology*, 261, 194-206.
- Scribano F. R. (2013). Manejo, cosecha y poscosecha del fruto del banano.-1ª ed.-
- Sepúlveda Benavides A. (2010). Efecto de inhibidores del pardeamiento enzimático en peras (*Pyrus communis* L.) cv. Packham's Triumph mínimamente procesadas.
- Serrano-Martínez A., Fortea M. I., Del Amor F. M. y Núñez-Delicado E. (2010). Kinetic characterisation and thermal inactivation study of partially purified red pepper (*Capsicum annuum* L.) peroxidase. *Food Chemistry*, 107(1), 193-199.

- Seymour C., Taylor J. y Tucker C., (1993). *Biochemistry of Fruit Ripening*. Ed. Chapman y Hall, London. ISBN 0 412 40830 9.
- Shama G. y Alderson P. (2005). UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation. *Trends in Food Science & Technology*. 16 (4), pp. 128-136
- Sidhu J. S. y Zafar T. A. (2020). Chemical Composition and Nutritional Profile of Raw and Processed Banana Products. *Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition*, 207-225.
- Sikora M. y Świeca M. (2018). Effect of ascorbic acid postharvest treatment on enzymatic browning, phenolics and antioxidant capacity of stored mung bean sprouts. *Food chemistry*, 239, 1160-1166.
- Silva E. M. (2000). Mecanismos bioquímicos de fisiopatías importantes de frutas. In Congreso iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones (Vol. 2, pp. 5-19).
- Silva M. L. R. (2014). Irradiación UVC y tiempo de almacenamiento en características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras en ananas comosus var. cayena lisa, mínimamente procesada. *Cientifi-k* 2 (1), pp 47-61.
- Silva, F. V. M., y Sulaiman, A. (2022). Control of enzymatic browning in strawberry, apple, and pear by physical food preservation methods: Comparing ultrasound and high-pressure inactivation of polyphenoloxidase. *Foods*, 11(1942).
- Simmonds N. W. (1960). Notes on banana taxonomy. *Kew bulletin*, 14(2), 198-212.
- Simmonds N. W. y Shepherd K. (1955). The taxonomy and origins of cultivated bananas. *New Phytologist*. Londres 55:302 - 312.
- Singh B., Singh J. P., Kaur A. y Singh N. (2016). Bioactive compounds in banana and their associated health benefits—A review. *Food Chemistry*, 206, 1-11.
- Singh B., Suri K., Shevkani K., Kaur A., Kaur A. y Singh N. (2018). Enzymatic browning of fruit and vegetables: a Review. *Enzymes in Food Technology* (pp. 63-78). Springer, Singapore.
- Soliva F. R. C., Elez-Martínez P., Calderó M. y Martín-Belloso O. (2001). Kinetics of polyphenol oxidase activity inhibition and browning of avocado puree preserved by combined methods. *Journal of Food Engineering*, 55(2), 131-137
- Soltani M., Alimardani R. y Omid M. (2010). Comparison of some chromatic, mechanical and chemical properties of banana fruit at different stages of ripeness. *Modern Applied Science*, 4(7), 34.
- Soltani M., Alimardani R. y Omid M. (2010). Comparison of some chromatic, mechanical and chemical properties of banana fruit at different stages of ripeness. *Modern Applied Science*, 4(7), 34.
- Someya S., Yoshiki Y. y Okubo K. (2002). Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). *Food chemistry*, 79(3), 351-354.
- Soorianathasundaram K., Narayana C. K. y Paliyath G. (2016). Bananas and plantains. *Encyclopedia of Food and Health*.

- Sotto Ballesteros M. (2008). Bananos Técnicas de Producción, Manejo Poscosecha y Comercialización. Tercera edición. Ed. San José. ISBN 9977-47-154-1.
- Soysal Ç. y Söylemez Z. (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. *Journal of Food Engineering*, 68, 349–356.
- Stohs S.J. y Miller M.J.S. (2014). A case study involving allergic reactions to sulfur-containing compounds including, sulfite, taurine, acesulfame potassium and sulfonamides. *ChemToxicol* 63:240–243
- Subramanian N., Venkatesh P., Ganguli S. y Sinkar V.P. (1999). Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(7): 2571-2578.
- Sui X., Meng Z., Dong T., Fan X. y Wang Q. (2023). Enzymatic browning and polyphenol oxidase control strategies. *Current Opinion in Biotechnology*, 81, 102921.
- Sulaiman A., Soo M. J., Farid M. y Silva F. V. (2015). Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 165, 133-140.
- Sun Y., Zhong L., Cao L., Lin W. y Ye X. (2015). Sonication inhibited browning but decreased polyphenols contents and antioxidant activity of fresh apple (malus pumila mill, cv. Red Fuji) juice. *Journal of food science and technology*, 52(12), 8336-8342.
- Suttirak W. y Supranee M. (2010) Potential Application of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxalic Acid for Browning Inhibition in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Weerayuth Division of Agro-Industry, School of Agricultural Technology, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161, Thailand
- Tapia C., Moscoso N., Vasco C. y Valencia-Chamorro S. (2015). Cambio metabólicos y fisiológicos en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 1-7.
- Terefe, N. S., Augustin, M. A., y Buckow, R. (2017). Effects of processing on color of fruit and vegetable products: A review. *Food Research International*, 104, 136–149.
- Thompson A. K., Supapvanich S. y Sirison J. (2011). *Banana Ripening: Science and Technology*. Springer Nature.
- Tiwari U. y Cummins E. (2013). Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre-and post-harvest food processing operations. *Food Research International*, 50(2), 497-506.
- Toconás N.M., Cravero A.P., Villalba J.F., Olivares A.P., Sajama J.N., Della Fontana F., Ramón A.N., Armada M. (2022). Fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en la pulpa de banana y sus harinas: influencia del estado de maduración. VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2022)
- Toivonen P. M. y Brummell D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest biology and technology*, 48(1), 1-14.

- Tola Y. B. y Ramaswamy H. S. (2012). Thermal Processing Principles. *Food Biochemistry and Food Processing*, 725-745.
- Tomadoni B., Cassani L., Viacava G., Moreira M. D. R. y Ponce A. (2017). Effect of ultrasound and storage time on quality attributes of strawberry juice. *Journal of Food Process Engineering*, 40(5), e12533.
- Tomás-Barberán F. A. y Espín J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853-876.
- Tomasević I., Tomovic V., Milovanovic B., Lorenzo J., Đorđević V., Karabasil N. y Djekic I. (2019). Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. *Meat science*, 148, 5-12.
- Tsouvaltzis P. y Brecht J. K. (2016). Inhibition of Enzymatic Browning of Fresh-Cut Potato by Immersion in Citric Acid is Not Solely Due to pH Reduction of the Solution. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e12829.
- Ünal M. Ü. (2007). Properties of polyphenol oxidase from Anamur banana (*Musa cavendishii*). *Food Chemistry*, 100(3), 909-913.
- Vally H., Misso N. L. y Madan V. (2009). Clinical effects of sulphite additives. *Clinical y Experimental Allergy*, 39(11), 1643-1651.
- Van Dalen G., Osman F. y Don A. (2010). Colour and appearance analysis of fruit and vegetable soup using a digital colour imaging system. In *Conference on Colour in Graphics, Imaging, and Vision* (Vol. 2010, No. 1, pp. 399-406). Society for Imaging Science and Technology.
- Vandevenne C. A. y Ribes M. E. (2002). Métodos de análisis microbiológicos de alimentos. Ediciones Díaz de Santos.
- Vásquez-Castillo W., Racines-Oliva M., Moncayo P., Viera W. y Seraquive M. (2019). Calidad del fruto y pérdidas poscosecha de banano orgánico *Musa acuminata* en el Ecuador. *Enfoque UTE*, 10(4), 57-66.
- Velásquez H. J. C., López M. L. M. y Cardona L. D. J. M. (2005). Caracterización de propiedades mecánicas del banano (cavendish valery). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 58(2), 2975-2988.
- Velásquez-Herrera J.D., Quintero-Castaño V.D., Lucas-Aguirre J.C. (2016). Caracterización física y morfológica de 8 diferentes bananos de postre del genotipo aaa/physical and morphological characterization in 8 different dessert bananas genotype AAA. *Vitae*, vol. 23, p. S795
- Velderrain-Rodríguez G. R., Quirós-Sauceda A. E., Aguilar G. G., Siddiqui M. W. y Zavala J. A. (2015). Technologies in fresh-cut fruit and vegetables. *Minimally Processed Foods* (pp. 79-103). Springer, Cham.
- Villanueva-Tiburcio J. E., Vargas-Solórzano J. W., González-Reynoso O., Leandro-Laguna C. y Alfaro-Cruz S. C. (2016). Effect of ultrasound and thermal treatment on pectin methylesterase activity in papaya (*Carica papaya*) juice. *Journal of Microbiology, Biotechnology y Food Sciences*, 5(5).

- Von Loesecke H. W. (1979). Bananas; chemistry, physiology, technology, 2nd ed. *New York: InterScience*, (No. 04; RMD, SB379. B2 V6 1950).
- Vu H. T., Scarlett C. J. y Vuong Q. V. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity from banana (*Musa cavendish*) peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13148.
- Wall M. M. (2006). Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and analysis*, 19(5), 434-445.
- Wang S., Lin T., Man G., Li H., Zhao L., Wu J. y Liao X. (2014). Effects of anti-browning combinations of ascorbic acid, citric acid, nitrogen and carbon dioxide on the quality of banana smoothies. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 161-173.
- Wang, Y., Xiang, Q., Ding, T., Li, J., y Xia, Q. (2015). Effects of ultrasound on color, microstructure and antioxidant activity of fresh-cut red bell pepper. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 94–100.
- Ward, G. y Nussinovitch A. (1996). Peel Gloss as a Potential Indicator of Banana Ripeness. *LWT - Food Science and Technology*, 29(3), 289–294.
- Whitaker J. R. y Lee C. Y. (1995). Recent advances in chemistry of enzymatic browning: an overview. *ACS Publications*, Cap. 1, pp. 2-7.
- Woolf A.B., Wibisono R., Farr J., Hallett I., Richter L., Oey I., Wohlers M., Zhou J., Fletcher G.C. y Requejo-Jackman C. (2013) Effect of high pressure processing on avocado slices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18:65–73
- Wu D. y Sun D. W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control—A review. *Trends in Food Science y Technology*, 29(1), 5-20.
- Wu J.Y. y Lin L.D. (2002). Ultrasound-induced stress responses of *Panax ginseng* cells: enzymatic browning and phenolics production. *Biotechnology Progress*. 18 862–866.
- Xu Y., Wang D., Zhao W., Zheng Y., Wang Y., Wang P., ... y Zhao X. (2022). Low frequency ultrasound treatment enhances antibrowning effect of ascorbic acid in fresh-cut potato slices. *Food Chemistry*, 380, 132190.
- Xu Z., Wang Y., Ren P., Ni Y. y Liao X. (2016). Quality of banana puree during storage: a comparison of high pressure processing and thermal pasteurization methods. *Food and bioprocess technology*, 9(3), 407-420.
- Yada R. Y., Bryksa B. y Nip W.-K. (2012). An Introduction to Food Biochemistry. *Food Biochemistry and Food Processing*, 1–25.
- Yan L., Fernando W., Brennan M., Brennan C. S., Jayasena V. y Coorey R. (2016). Effect of extraction method and ripening stage on banana peel pigments. *International Journal of Food Science y Technology*, 51(6), 1449e1456.
- Yang C. P., Fujita S., Ashrafuzzaman M. D., Nakamura N. y Hayashi N. (2000). Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 2732-2735.

- Yap M., Fernando W. M., Brennan C. S., Jayasena V. y Coorey R. (2017). The effects of banana ripeness on quality indices for puree production. *LWT*, 80, 10-18.
- Yeoh W. K. y Ali A. (2017). Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. *Food chemistry*, 216, 247-253.
- Yildiz G. (2018). The effect of different chemical agents on the prevention of enzymatic browning in banana. *Journal of Food Science and Engineering*, 7, 86-91.
- Yildiz G. (2019). Control of enzymatic browning in potato with calcium chloride and ascorbic acid coatings. *Food and Health*, 5(2), 121-127.
- Yoruk R. y Marshall M. R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review 1. *Journal of food biochemistry*, 27(5), 361-422.
- Yu J., Zhang F., Zhang J., Han Q., Song L. y Meng X. (2021). Effect of photodynamic treatments on quality and antioxidant properties of fresh-cut potatoes. *Food Chemistry*, 362, 130224.
- Zafra-Rojas Q. Y., Cruz-Cansino N., Ramírez-Moreno E., Delgado-Olivares L., Villanueva-Sánchez J. y Alanís-García E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.
- Zhang Z., Pang X., Xuwu D., Ji Z. y Jiang, Y. (2005). Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90(1-2), 47-52.
- Zhao W., Yang Zh., Chen Zh., Liu J., Wang W. Ch. y Zheng W. Yu. (2016). Hyperspectral surface analysis for ripeness estimation and quick UV-C surface treatments for preservation of bananas. *Journal of Applied Spectroscopy*, Vol. 83, No. 2.
- Zhelyazkov, S., y Manev, Z. (2024). Impact of Thermal, Ultraviolet and Ultrasonic Treatment on Mechanical, Physicochemical and Sensory Characteristics of Pear Jelly. Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Series II: Forestry• Wood Industry• Agricultural Food Engineering, 155-170.
- Zhou B., Feng H., y Luo Y. (2009). Ultrasound Enhanced Sanitizer Efficacy in Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 Population on Spinach Leaves. *Journal of Food Science*, Vol. 74,Nr. 6.
- Zhou L., Liu W., Xiong Z., Zou L., Chen J., Liu J. y Zhong J. (2016). Different modes of inhibition for organic acids on polyphenoloxidase. *Food Chemistry*, 199, 439-446.
- Zou Y., Yu Y., Cheng L., Li L., Peng S., Zhou W. y Li J. (2023). Effect of citric acid/pomelo essential oil nanoemulsion combined with high hydrostatic pressure on the quality of banana puree. *Food Chemistry: X*, 17, 1