

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de: Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

IMPREGNACIÓN A VACÍO SUAVE CON MIEL COMO
ESTRATEGIA PARA MEJORAR LA CALIDAD DE
MANDARINAS Y NARANJAS MÍNIMAMENTE
PROCESADAS

Autora: M.C. Gladys González González

Directora: Mg. María Élide Pirovani

Codirectora: Mg. Andrea Marcela Piagentini

Jurados:

Dr. Daniel Eduardo VÁZQUEZ

Dra. Rosa Juana JAGUS

Dr. Norberto Francisco GARIGLIO

Área de Conservación de alimentos

Instituto de Tecnología de Alimentos - FIQ – UNL

2021

Dedicada a mi madre y hermanos, por ser los motores de mi vida.

La presente tesis ha dado lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones a reuniones científicas:

Publicación:

- González-González, Gladys., Faicán, María Auxiliadora., Piagentini, Andrea M., Pirovani, María E. (2021). Impregnación por vacío suave con miel en naranjas mínimamente procesadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 22 (2), 226-240. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81369610009>
- González González, G., Piagentini A. M., y Pirovani, M. E. (2021). Optimization of Mild Vacuum Impregnation Process with Honey for Application to Fresh Mandarin Segments (En revisión).

Presentaciones a reuniones científicas:

- González-González, G., Faicán, M., Piagentini, A., y Pirovani, A. “Optimización de la impregnación a vacío suave con miel en naranjas mínimamente procesadas”. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas CLICAP 2022. San Rafael, Mendoza, Argentina (*Trabajo completo-aceptado*).
- González-González, G., Faicán, M., Piagentini, A., y Pirovani, A. “Optimización de la impregnación a vacío suave de naranjas frescas cortadas con miel”. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas CLICAP 2022. San Rafael, Mendoza, Argentina (*Resumen-aceptado*).
- González, G., Van de Velde, F., Méndez Galarraga, M. P., Piagentini, A. M., y Pirovani, M. E. “Parámetros de transferencia de masa en naranjas y mandarinas mínimamente procesadas impregnadas a vacío suave con miel”. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha – CABTP 2021. 26 al 30 de julio. Modalidad virtual desde la ciudad de Santa Fe, Argentina.
- González, G., Faicán, M., Piagentini, A. M., y Pirovani, M.E. “Cambios fisicoquímicos y en el potencial saludable de naranjas mínimamente procesadas por impregnación por vacío con miel”. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha – CABTP 2021. 26 al 30 de julio. Modalidad virtual desde la ciudad de Santa Fe, Argentina.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Litoral y el Instituto de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ingeniería Química, por darme la oportunidad para realizar el doctorado y por la disponibilidad de sus instalaciones, entre otros recursos, para realizar el trabajo experimental.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet), por otorgar la beca interna doctoral, con la cual pude realizar la presente tesis.

A la educación pública y gratuita.

A mis directoras de tesis Mag. María Élica Pirovani y Mag. Andrea Marcela Piagentini, por guiarme durante este proceso y por todo el conocimiento transmitido. Además, por estar presente y apoyarme también en cuestiones personales.

Agradezco puntualmente a María Élica por su amplia disposición, así como toda la paciencia, tiempo y esfuerzo dedicado. Pero, sobre todo, por su incansable empeño en hacer de mí una mejor profesional.

A todo el grupo de conservación por sus colaboraciones y apoyo, además del compañerismo, lo que hizo del trabajo algo más llevadero.

A mis compañeros del ITA por la amistad brindada y su apoyo tanto en lo laboral como en lo personal.

A Paula, Mayu, Franco, Juan Diego, Johan, y Dina por toda su colaboración y apoyo en las cuestiones laborales y personales. Además, por adoptarme y formar parte de mi vida durante todo este tiempo. Por todos los momentos compartidos, en los que comúnmente surgía la frase: “si no fuera por estos momentos”.

Finalmente, a mi querida madre y hermanos, por siempre motivarme a seguir creciendo profesionalmente y también por ser siempre, además de mis motores, mi “cable a tierra”.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	5
ÍNDICE DE TABLAS	8
ÍNDICE FIGURAS	12
RESUMEN.....	15
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. Generalidades de los cítricos	18
1.2. Estructura y composición de los frutos cítricos	20
1.3. Frutas mínimamente procesadas	23
1.4. Efecto del mínimo procesamiento sobre la calidad de la fruta	23
1.4.1. <i>Cambios fisicoquímicos</i>	24
1.4.2. <i>Cambios sensoriales</i>	25
1.4.3. <i>Cambios microbiológicos</i>	25
1.4.4. <i>Cambios nutricionales</i>	25
1.5. Generalidades de la impregnación por vacío	26
1.6. Tratamiento de IV de frutas mínimamente procesadas.....	27
1.7. Generalidades sobre la miel	30
1.8. Factibilidad de la IV con miel de mandarinas y naranjas mínimamente procesadas	31
2. OBJETIVOS.....	32
2.1. Objetivo general.....	33
2.2. Objetivos específicos	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Recepción y acondicionamiento de las materias primas.....	35
3.2. Ensayos preliminares	35
3.3. Ensayo experimental de IV	36
3.3.1. <i>Obtención de los gajos de mandarinas y octavos de naranjas frescas cortadas</i>	36
3.3.2. <i>Tratamiento de IV suave con SO de miel</i>	36
3.4. Diseño experimental	38
3.5. Optimización y validación	39
3.6. Determinaciones analíticas	40
3.6.1. <i>Parámetros de transferencia de masa</i>	40
3.6.2. <i>Color</i>	41

3.6.3. <i>Textura</i>	42
3.6.4. <i>Actividad de agua (aw), contenido de sólidos solubles (SS) y pH</i>	42
3.6.5. <i>Contenido de ácido ascórbico y Vitamina C</i>	43
3.6.6. <i>Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante</i>	45
3.6.7. <i>Identificación y cuantificación de glucósidos flavonoides</i>	49
3.7. <i>Análisis microbiológico</i>	50
3.8. <i>Análisis sensorial</i>	51
3.9. <i>Análisis estadístico</i>	52
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
4.1. <i>Caracterización de la miel</i>	55
4.2. <i>Tratamiento de IV suave de gajos de mandarina con SO de miel</i>	56
4.2.1. <i>Caracterización de los gajos de mandarinas</i>	56
4.2.2. <i>Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los parámetros de transferencia de masa y la aw</i>	57
4.2.3. <i>Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los atributos fisicoquímicos</i> 61	
4.2.3.1. <i>Cambios en el color</i>	61
4.2.3.2. <i>Cambios en textura</i>	64
4.2.3.3. <i>Cambios en sólidos solubles y pH</i>	67
4.2.4. <i>Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los cambios en el potencial saludable</i>	68
4.2.4.1. <i>Cambios en el contenido de fenoles totales</i>	71
4.2.4.2. <i>Cambios en el contenido de ácido ascórbico y vitamina C</i>	71
4.2.4.3. <i>Cambios en la capacidad antioxidante</i>	73
4.2.4.4. <i>Cambios en el contenido de flavanonas</i>	73
4.2.5. <i>Optimización de respuestas múltiples y validación de los modelos predictivos</i>	74
4.2.6. <i>Análisis microbiológico</i>	77
4.2.7. <i>Análisis sensorial</i>	77
4.3. <i>Tratamiento de IV suave de octavos de naranja con SO de miel</i>	79
4.3.1. <i>Caracterización de los octavos de naranja</i>	79
4.3.2. <i>Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los parámetros de transferencia de masa y la actividad de agua</i>	80
4.3.3. <i>Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los atributos fisicoquímicos</i> 84	
4.3.3.1. <i>Cambios en el color</i>	85

4.3.3.2. <i>Cambios en textura</i>	89
4.3.3.3. <i>Cambios en sólidos solubles y pH</i>	90
4.3.4. Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los cambios en el potencial saludable.....	92
4.3.4.1. <i>Cambios en fenoles totales</i>	92
4.3.4.2. <i>Cambios en ácido ascórbico y vitamina C</i>	95
4.3.4.3. <i>Cambios en la capacidad antioxidante</i>	97
4.3.4.4. <i>Cambios en flavanonas</i>	98
4.3.4. Optimización de respuestas múltiples de la IV con miel de octavos de naranja y validación de los modelos predictivos	100
4.3.5. Análisis microbiológico.....	104
4.3.6. Análisis sensorial	104
4.4. Análisis comparativo entre las matrices estudiadas y recomendaciones ...	106
5. CONCLUSIONES	107
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Principales países productores de cítricos	19
Tabla 1.2 Calendario de producción de mandarinas y naranjas en Argentina ...	19
Tabla 1.3 Estándares de calidad para la cosecha de mandarinas y naranjas, en función del mercado destino	20
Tabla 1.4 Valor nutricional por 100 g de pulpa comestible de mandarinas y naranjas	22
Tabla 1.5 Composición química general de la miel de abeja (g/100 g)	30
Tabla 3.1 Determinación de humedad de gajos mandarina por el método tradicional (Estufa) vs equipo PMR50 (Radwag)	41
Tabla 4.1 Características de la miel usada durante los tratamientos de impregnación del diseño experimental (2019) y los ensayos de validación de los modelos (2020)	55
Tabla 4.2 Características iniciales de gajos de mandarinas frescos usados para los ensayos de impregnación correspondientes al diseño experimental (2019) y la validación de los modelos (2020)	57
Tabla 4.3 Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	58
Tabla 4.4 ANOVAs de los modelos propuestos para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (C_{aw}) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	58
Tabla 4.5 Cambios en el color (CL^* , Ca^* , Cb^* , CC^*_{ab} , y Ch_{ab}), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento.....	62

Tabla 4.6 ANOVAs de los modelos propuestos para los cambios en el color (CL*, Ca*, Cb*, CC*ab, y Chab), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento	63
Tabla 4.7 Cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CVitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo i (0 y 8 d) del almacenamiento	69
Tabla 4.8 ANOVAs de los modelos propuestos para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CvitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo i (0 y 8 d) del almacenamiento	70
Tabla 4.9 Criterios utilizados para optimizar el tratamiento de impregnación a vacío suave con solución de miel (50 °Brix) en gajos de mandarina usando la función de Derringer	74
Tabla 4.10 Valores predichos y experimentales para la pérdida de agua (WL), cambios en sólidos solubles y vitamina C al día 0 (CSS ₀ y CvitC ₀ , respectivamente) y cambios en firmeza al día 8 (CF ₈), en gajos de mandarina impregnados bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)	75
Tabla 4.11 Parámetros de transferencia y cambios en parámetros de calidad de gajos de mandarina impregnados a vacío, bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)	76
Tabla 4.12 Perfil sensorial de gajos de mandarina frescos sin impregnar e impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)	78
Tabla 4.13 Características iniciales de octavos de naranja frescos usados en el diseño experimental de impregnación a vacío (2019) y el ensayo de validación (2020)	79

Tabla 4.14. Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (Ca_w) de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	80
Tabla 4.15 ANOVAs de los modelos propuestos para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (Ca_w) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	81
Tabla 4.16 Cambios en el color (CL^* , Ca^* , Cb^* , CC^*_{ab} , y Ch_{ab}), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento	86
Tabla 4.17 ANOVA de los modelos propuestos para los cambios en el color (CL^* , Ca^* , Cb^* , CC^*_{ab} , y Ch_{ab}), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento	87
Tabla 4.18 Cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CVitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento.....	93
Tabla 4.19 ANOVA de los modelos propuestos para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CVitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento.....	94
Tabla 4.20 Criterios utilizados para optimizar el tratamiento de impregnación por vacío con solución de miel (50 °Brix) de octavos de naranja usando la función de Derringer	101
Tabla 4.21 Valores predichos y experimentales para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y los cambios en textura, sólidos solubles y fenoles totales al día 0 (CF_0 , CSS_0 , y CFT_0 , respectivamente) en octavos de naranja impregnados a vacío con SO de miel (50 °Brix) bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min)	102

Tabla 4.22 Cambios en parámetros de calidad de octavos de naranja impregnados a vacío, bajo condiciones óptimas (Presión de vacío: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min) 103

Tabla 4.23 Perfil sensorial de octavos de naranja frescos sin impregnar e impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min)..... 105

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1.1 Secciones transversal (izquierda) y longitudinal (derecha) de un fruto maduro de naranja dulce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osb.).	21
Figura 1.2 Diagrama de las principales operaciones para el mínimo procesamiento de frutas en la industria.	24
Figura 3.1 Mandarinas (a) y naranjas (b) usadas como materia prima.	35
Figura 3.2 Diagrama general de proceso de impregnación a vacío con solución osmótica (50 °Brix) de miel para mandarinas y naranjas mínimamente procesadas.	37
Figura 3.3 Coordenadas básicas de color	41
Figura 3.4 Curva fuerza vs tiempo del test de penetración.	42
Figura 3.5 Cromatograma de ácido ascórbico obtenido para octavos de naranja impregnados con miel.	44
Figura 3.6 Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA).	45
Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA) para la corrección del contenido de fenoles totales	
Figura 3.7 Curva de calibrado de vitamina C (VitC).	45
Figura 3.8 Curva de calibrado de ácido gálico (AG) para la determinación del contenido de fenoles totales.	46
Figura 3.9 Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA) para la corrección del contenido de fenoles totales.	47
Figura 3.10 Cromatograma del perfil de flavanonas: narirutina (Nar); hesperidina (Hesp); derivado de flavanonas (D-flav)	50
Figura 3.11 Planilla usada para el análisis sensorial descriptivo cuantitativo.	53
Figura 4.1 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la pérdida de agua (WL) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnada a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	59

Figura 4.2 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el coeficiente de elasticidad al día 0 (CCE_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	66
Figura 4.3 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la firmeza al día 8 (CF_8) en función de la presión y tiempo de tratamiento de en gajos de mandarina impregnados al vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	66
Figura 4.4 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) en función de la presión y tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	67
Figura 4.5 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la vitamina C al día 0 ($CvitC_0$) en función de la presión y tiempo de tratamiento de gajos impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	72
Figura 4.6 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la ganancia de sólidos (SG) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	81
Figura 4.7 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la pérdida de agua (WL) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	82
Figura 4.8 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la reducción de peso (WR) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	83
Figura 4.9 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la luminosidad al día 0 (CL^*_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel	88
Figura 4.10 Superficie de respuesta y áreas de contorno para los cambios en la firmeza (a) y el coeficiente de elasticidad (b) al día 0 (CF_0 y CCE_0 , respectivamente) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados al vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	89

Figura 4.11 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel	91
Figura 4.12 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en fenoles totales al día 0 (CFT_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados con solución de miel (50 °Brix)	95
Figura 4.13 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (a) y vitamina C (b) al día 8 (CAA_8 y $CvitC_8$, respectivamente) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados con solución de miel (50 °Brix)	96
Figura 4.14 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la capacidad antioxidante al día 8 (CCA_8) en función de la presión de vacío y el tiempo de tratamiento en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)	98
Figura 4.15 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el contenido de narirutina (a) y hesperidina (b) al día 0 ($CNar_0$ y $CHesp_0$, respectivamente) en función de la presión de vacío y el tiempo de tratamiento en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix).	99

RESUMEN

La presente tesis se orientó a evaluar el potencial de la impregnación a vacío (IV) con miel de mandarinas y naranjas para la obtención de un producto mínimamente procesado con valor agregado. Para optimizar el proceso de IV con solución osmótica de miel (50 °Brix) aplicada a gajos de mandarina y octavos de naranja, se aplicó la metodología de superficie de respuesta. Se modeló el efecto de la presión de vacío (P: 2-18 inHg) y el tiempo total (50% vacío + 50% relajación) de tratamiento (t: 14-42 min) sobre la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR), así como los cambios (%) en: actividad de agua (C_{a_w}), parámetros de color (CL^*_i , Ca^*_i , Cb^*_i , CC^*_{abi} y Ch_{abi}), parámetros de textura (CF_i y CCE_i), sólidos solubles (CSS_i), pH (CpH_i), fenoles totales (CFT_i), ácido ascórbico (CAA_i), vitamina C ($CVitC_i$), capacidad antioxidante (CCA_i), narirutina ($CNar_i$) y hesperidina ($CHesp_i$), al tiempo i (i: 0 y 8 d) del almacenamiento a 2.0 ± 0.5 °C. Se determinaron las respuestas afectadas por las variables del proceso y se obtuvieron sus respectivos modelos predictivos (Mandarinas: WL, CCE_0 , CSS_0 , CF_8 , y $CVitC_0$; Naranjas: SG, WL, WR, CL^*_0 , CF_0 , CCE_0 , CSS_0 , CFT_0 , $CNar_0$, $CHesp_0$, CAA_8 , $CVitC_8$ y CCA_8). A partir de los modelos desarrollados para cada respuesta, se determinaron las condiciones óptimas de P y t para la IV de cada fruta, utilizando la función de deseabilidad de Derringer (D) para la optimización de respuestas múltiples (Mandarinas: maximizando CSS_0 y $CVitC_0$ y minimizando WL, CF_8 ; Naranjas: maximizando SG, CSS_0 y CFT_0 , minimizando WL, WR y fijando CF_0 a 100%). El procedimiento de optimización indicó que las condiciones de proceso óptimas son 16 inHg y 24 min para gajos de mandarina, mientras que para octavos de naranja son 16 inHg y 22 min. Se realizaron ensayos adicionales de validación bajo las condiciones óptimas, tanto para mandarinas como naranjas y se analizaron los valores experimentales *versus* los predichos. Además, se realizó un análisis sensorial descriptivo cuantitativo (ADC) con panel entrenado, de las muestras de ambas frutas impregnadas al vacío en las condiciones óptimas y de las frutas frescas. El ensayo de validación mostró, en general, acuerdo entre los valores experimentales obtenidos y los predichos para las respuestas utilizadas. Respecto al ADC, los descriptores elegidos para el perfil sensorial de mandarinas y naranjas fueron: olor típico, olor a miel, olor extraño, color típico, brillo, textura, jugosidad,

dulzor, acidez, sabor típico, sabor miel y sabor extraño. El ANOVA indicó que inicialmente los gajos de mandarina y octavos de naranja impregnados (MIV y NIV, respectivamente) eran más dulces, con olor y sabor a miel, aunque con menor sabor y olor típico a cítricos que los gajos de mandarina y octavos de naranja sin impregnar (MSI y NSI, respectivamente). Adicionalmente, el brillo de MIV se incrementó, con respecto a MSI. En el día 8, el color típico de cítricos en NIV se redujo, en comparación con NSI, mientras que no se percibieron cambios para esta respuesta, entre MIV y MSI. El olor a miel era ligeramente perceptible en ambas frutas impregnadas, con bajo sabor a miel, pero el dulzor se mantuvo. No se generó olor ni sabor extraño en NIV y MIV, hasta el día 8. El estudio ADC demostró que el uso de miel aplicada por IV tiene un gran potencial para la comercialización de un producto diferenciado (mandarinas y naranjas mínimamente procesadas con miel).

1.INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades de los cítricos

El origen de los cítricos es un tema controvertido y complejo, para el que existen diferentes hipótesis. En general, todas ellas parecen coincidir en que son originarios de las regiones tropicales y subtropicales del sureste de Asia y el archipiélago malayo y que, desde ahí, se dispersaron al resto de continentes (Ancillo y Medina, 2014).

De acuerdo con Orduz-Rodríguez y Mateus (2012), los cítricos pertenecen a la familia *Rutaceae* y están agrupados en la subfamilia *Aurantioideae*. Los géneros más importantes son: *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunela*. El género *Citrus* es el de mayor importancia agronómica, representando casi la totalidad de los cítricos cultivados. Dentro de este género, los cítricos de mayor importancia comercial son: mandarinas (*C. reticulata* Blanco; *C. unshiu* Marc.), naranja (*C. sinensis* (L.) Osb.), limón (*C. limon* (L.) Burm), limas (*C. aurantifolia* Christon.) y pomelo (*C. paradisi* Macf.). Las mandarinas y naranjas son las de mayor importancia a nivel internacional, con una proporción de la producción total superior al 80% (Federcitrus, 2018).

Argentina se encuentra en el 8vo lugar, dentro de los 10 principales países productores de cítricos (Tabla 1.1), con poco más del 3% de la producción total. Las principales provincias con citricultura comercial, son: Tucumán, Entre Ríos, Corrientes, Salta y Jujuy, siendo Entre Ríos la mayor productora de mandarinas y naranjas, contribuyendo en el año 2017 con aproximadamente el 44% y 36% de la producción nacional, respectivamente (Federcitrus, 2018). La provincia de Santa Fe no cuenta actualmente con una citricultura de importancia nacional, pero sí presenta características climáticas y edáficas favorables para el cultivo (Micheloud y Pilatti, 2014). De acuerdo con el Censo Nacional Agropecuario del 2018 (CNA, 2018), Santa Fe tiene registrada una superficie plantada de 12,6 ha para mandarinas y 166,4 ha para naranjas.

La producción de estos cítricos en Argentina se extiende a varios meses en el año (Tabla 1.2). La cosecha se realiza cuando se cumplen con distintas condiciones mínimas establecidas por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad

Agroalimentaria (SENASA), en lo referente al diámetro ecuatorial de la fruta, porcentaje de jugo y ratio (Tabla 1.3) (Micheloud y Pilatti, 2014).

Tabla 1.1 Principales países productores de cítricos

Países	Producción cítrica (miles t)
China	32.200
Brasil	20.400
México	7.584
España	7.248
EE.UU.	7.045
Egipto	4.110
Turquía	3.975
Argentina	3.273
Sudáfrica	2.734
Italia	2.603
Resto de los países	9.894

Fuente: Federcitrus (2018)

Tabla 1.2 Calendario de producción de mandarinas y naranjas en Argentina

Especie	Varietal	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Mandarinas	Satsuma			x	x								
	Nova						x	x					
	Común						x	x	x	x	x		
	Clementina					x	x	x	x				
	Dancy							x	x	x	x		
	Campeona								x	x	x		
	Ellendale							x	x	x	x	x	x
	Fortune									x	x		
	Ortanique									x	x	x	
	Malvasio									x	x	x	
	Murcott									x	x	x	
	Naranja	Navels						x	x	x	x	x	
Común								x	x	x	x	x	
Salustiana								x	x	x	x	x	
Valencia Seedless										x	x	x	
Valencia Late											x	x	x
													x

Fuente: Adaptado de Bello (2015) y FECIER (2021)

Tabla 1.3 Estándares de calidad para la cosecha de mandarinas y naranjas, en función del mercado destino

Especie	Mercado	Diámetro ecuatorial (mm, mínimo y máximo)	Jugo (%, mínimo)	Ratio (mínimo)
Mandarina	Exportación	55-85	35	7:1
	Interno	55-90	30	7:1
Naranja	Exportación	60-85	40	6:1
	Interno	55-90	35	6:1

Ratio: relación de sólidos solubles/acidez. Fuente: Micheloud y Pilatti (2014)

1.2. Estructura y composición de los frutos cítricos

Los frutos cítricos, son bayas a las que particularmente se les denomina hesperidios. Su tamaño varía según la especie y variedad al igual que su forma, que puede ser esférica, más o menos achatada, oval o piriforme (Martínez-Alcántara *et al.*, 2015).

La porción externa (coloreada) de la corteza se denomina flavedo y la interna (incolora) se denomina albedo. El flavedo está formado por células parenquimáticas densamente empaquetadas en el tejido y al albedo también lo componen células parenquimáticas, aunque débilmente empaquetadas y con grandes espacios intercelulares entre ellas que confieren a este tejido su apariencia esponjosa característica.

La porción interna del fruto está compuesta por segmentos, con forma de media luna (en sección longitudinal), que rodean al eje central del fruto. Estos segmentos están compuestos por una membrana locular o septo que envuelve a las vesículas y, en su caso, a las semillas que puedan haberse formado por fecundación de los óvulos (Tadeo *et al.*, 2003) (Figura 1.1).

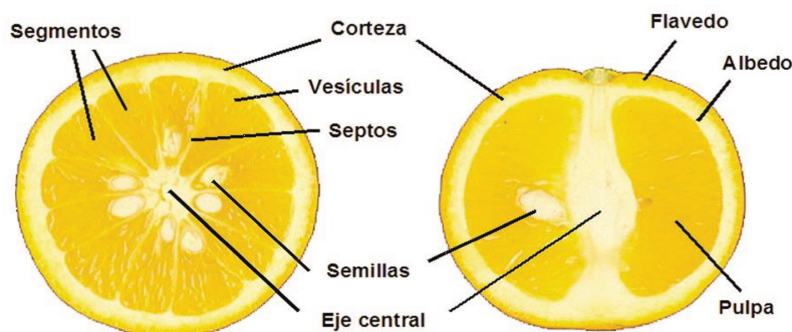


Figura 1.1 Secciones transversal (izquierda) y longitudinal (derecha) de un fruto maduro de naranja dulce (*Citrus sinensis* (L.) Osb.). Fuente: Tadeo *et al.* (2003)

La corteza del fruto está constituida por una estructura epicuticular en forma de placas con células secretoras y esclerenquimáticas cuya función es proteger mecánicamente y limitar la transpiración mediante la exudación de cera. En general, alcanos, aldehídos y ácidos grasos son los componentes principales de la cera epicuticular cítrica, mientras que los alcoholes primarios y terpenoides son constituyentes menores (Gómez, 2014).

La pulpa contiene un alto porcentaje de agua (85-90%) y diversos componentes dentro de los que se incluye a los carbohidratos, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitamina C, minerales y pequeñas cantidades de lípidos, proteínas y metabolitos secundarios, como los carotenoides, flavonoides y volátiles (Del Caro *et al.*, 2004; Cháfer *et al.*, 2008; Rapisarda *et al.*, 2008). En este sentido, los flavonoides como hesperidina, narirutina y didimina, son los principales fenoles solubles en agua que se han identificado en los frutos cítricos (Cano *et al.*, 2008; Contreras-Oliva *et al.*, 2012; Goulas y Manganaris, 2012; Khan *et al.*, 2014; Ramful *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2008).

Específicamente, las mandarinas y naranjas presentan características que las hacen apreciables para el consumidor, como el color y sabor de su pulpa, además de que han sido altamente valorados por su importante contenido de vitamina C y los demás compuestos nutritivos y/o benéficos para la salud (Del Caro *et al.*, 2004; Iglesias *et al.*, 2007; Rapisarda *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2019). La proporción de estos componentes nutricionales puede variar de acuerdo a la especie y variedad (Anderson *et al.*, 1996; Cano *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2008). Una referencia del valor nutricional de las mismas se muestra en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4 Valor nutricional por 100 g de pulpa comestible de mandarina y naranja

Componente	Mandarina Dancy	Naranja Valencia
Calorías (Kcal)	46	96
Hidratos de carbono (g)	11,7	23,4
Proteínas (g)	0,8	2,3
Grasa (g)	0,2	0,6
Sodio (mg)	2,0	2,0
Potasio (mg)	127,0	359,0
Fósforo (mg)	18,0	42,0
Calcio (mg)	40,0	76,0
Hierro (mg)	4,0	1,5,0
Vitamina A (UI)	420	380
Tiamina (mg)	0,06	19,0
Riboflavina (mg)	0,02	0,08
Niacina (mg)	0,1	0,8
Vitamina C (mg)	31	93

Fuente: Anderson *et al.* (1996)

El consumo de estas frutas ha sido relacionado con múltiples beneficios para la salud, dentro de los que se puede mencionar una reducción en el riesgo de desarrollar enfermedades respiratorias, degenerativas (cáncer, diabetes, entre otras), cardiovasculares y neurológicas (Cháfer *et al.*, 2008; de la Rosa-Hernández *et al.*, 2016, Cebadera Miranda, 2017). Estos efectos muy probablemente se deben a la acción de los compuestos bioactivos presentes en el fruto y, por lo tanto, la ingesta de estas sustancias en la dieta habitual es muy recomendable debido a sus propiedades benéficas.

Sin embargo, algunas personas no consumen las mandarinas y naranjas como fruta fresca, por las dificultades del pelado (principalmente naranjas) y porque durante este se transfiere olor en las manos debido a la liberación de aceites esenciales (Agostini *et al.*, 2013). En este sentido, la distintiva estructura de las mandarinas y naranjas (disposición radial de sus gajos o segmentos) las hace ideales para su procesamiento y consumo como fruta mínimamente procesada (Barrios *et al.*, 2014; Plaza *et al.*, 2011).

1.3. Frutas mínimamente procesadas

Las frutas mínimamente procesadas (FMP) constituyen un sector de rápido crecimiento dentro de la industria de alimentos, enfocado en satisfacer la demanda de productos de calidad, amplia disponibilidad, fácil preparación y alto valor nutritivo (Montero-Calderón *et al.*, 2009). Algunas frutas de importancia, dentro del mercado de FMP, son piña, melón, sandía, manzana, pera, uva, entre otras (Robles-Sánchez *et al.*, 2007).

Estos productos se obtienen mediante operaciones como lavado, pelado, cortado, reducción de tamaño, entre otras (Montero-Calderón *et al.*, 2009). Posteriormente, son desinfectados, envasados y almacenados a temperaturas de refrigeración, permitiendo conservar sus atributos similares a los del fruto fresco recién cortado (Robles-Sánchez *et al.*, 2007) (Figura 1.2).

1.4. Efecto del mínimo procesamiento sobre la calidad de la fruta

Las frutas recién cortadas son más perecederas que las frutas enteras, debido al estrés fisiológico al que son sometidas como consecuencia del procesamiento, induciendo alteraciones fisiológicas importantes como el pardeamiento, ablandamiento de los tejidos, pérdida de agua y desarrollo de olores y sabores desagradables (Alegría *et al.*, 2012).

El incremento en la velocidad de los cambios bioquímicos y fisiológicos, así como la salida del contenido celular acelera los diferentes tipos de deterioro, que se reflejan en diversos cambios, entre los que figuran los fisicoquímicos, sensoriales, microbiológicos y nutricionales, que pueden afectar considerablemente la calidad del producto (Salinas-Hernández *et al.*, 2007).

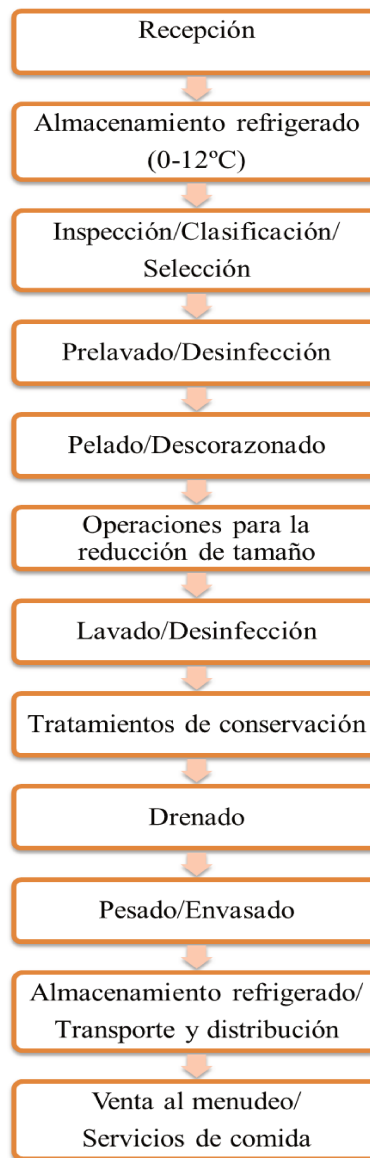


Figura 1.2 Diagrama de las principales operaciones para el mínimo procesamiento de frutas en la industria (Fuente: Pirovani *et al.*, 2015).

1.4.1. Cambios fisicoquímicos

El proceso de pelado y corte, permite que las enzimas y los sustratos entren en contacto, principalmente en la superficie del producto, acelerando el metabolismo (Hodges y Toivonen, 2008). Como consecuencia, ocurre la pérdida de firmeza, por la acción de enzimas proteolíticas y pectolíticas sobre la pared celular, así como el pardeamiento superficial, por la oxidación de los compuestos fenólicos, afectando considerablemente la calidad visual (Francis *et al.*, 2012).

Por otro lado, el contenido de sólidos solubles totales (SST) también presenta cambios, disminuyendo o aumentando en el tejido vegetal desde el corte, almacenamiento y consumo, debido a reacciones enzimáticas que son favorecidas por el daño físico y que son responsables del cambio de sabor impactando en la aceptabilidad del producto por el consumidor (Rangel-Marrón y López-Malo, 2012).

1.4.2. *Cambios sensoriales*

El color es uno de los principales atributos que determina la aceptabilidad y, por tanto, la decisión de compra del producto, por lo que se requiere evitar su evidente alteración (Rangel-Marrón y López-Malo, 2012). Además, puede darse la aparición de sabores y aromas extraños, cuando el producto fue envasado en una atmósfera inadecuada o por la adición de sustancia conservantes, entre otras alteraciones como apariencia traslúcida, síntomas característicos de daño por frío (como un ablandamiento excesivo y pérdida de integridad del tejido vegetal) y pérdida de sabor (Artés *et al.*, 2009).

1.4.3. *Cambios microbiológicos*

El mínimo procesamiento conlleva a la remoción de la capa dérmica que es la protección natural de las frutas, incrementando la exposición del tejido al aire que, junto con la alta actividad de agua y nutrientes, representa un alto riesgo de contaminación microbiana, principalmente por mohos y levaduras (Jideani *et al.*, 2017). Adicionalmente, el producto puede contaminarse durante alguna etapa desde la producción hasta el consumo, con patógenos que pueden ser de fuente humana, animal o ambiental (Francis *et al.*, 2012; Pirovani *et al.*, 2006).

1.4.4. *Cambios nutricionales*

Después del corte, alguno de los principales componentes nutritivos de las frutas, como son las vitaminas, compuestos fenólicos y carotenoides, son susceptibles a la degradación, debido a la exposición a la luz y el oxígeno (Salinas-Hernández *et al.*, 2007). Sin embargo, también puede ocurrir un aparente incremento del valor nutricional por la síntesis inducida de compuestos fenólicos, luego del estrés fisiológico (Jideani *et al.*, 2017; Francis *et al.*, 2012).

Considerando los cambios que pueden ocurrir en el producto, algunos requisitos a considerar para la elaboración de productos frescos cortados de buena calidad son: partir de una materia prima de alta calidad, el empleo de buenas prácticas de higiene y manufactura, realizar el procesamiento en un ambiente a baja temperatura, uso de coadyuvantes de procesamiento suaves en el agua de lavado para la desinfección o para la prevención del pardeamiento y pérdida de textura, minimizar el daño mecánico durante las operaciones propias del procesamiento, el uso de materiales de embalaje adecuados y temperatura correcta durante la distribución y manipulación (Pirovani *et al.*, 2015).

1.5.Generalidades de la impregnación por vacío

La impregnación por vacío (IV) es una técnica no destructiva utilizada para introducir una solución, con una composición específica, en matrices alimentarias porosas de manera controlada (Verma, 2017). Se ha utilizado para reducir el pH y la actividad acuosa de un producto, cambiar sus propiedades térmicas, mejorar su composición nutritiva, así como la textura, el color, el sabor y aroma (Derossi *et al.*, 2010; Fito *et al.*, 2001; Martínez-Monzó *et al.*, 1998; Radziejewska-Kubzdela *et al.*, 2014).

Esta técnica aprovecha la microestructura porosa de las matrices alimentarias, para reemplazar el gas ocluido en su estructura celular por solutos contenidos en la solución osmótica (SO), a través de la acción capilar y gradientes de presión impuestas en el sistema. Involucra un intercambio de materia promovido por la acción de un mecanismo hidrodinámico (MHD) entre un sistema sólido-líquido, acoplado a un fenómeno de deformación-relajación (FDR) en la matriz sólida del alimento (Ostos *et al.*, 2012).

Es decir, al sumergir una matriz porosa en una fase líquida y someterla a presiones sub atmosféricas el gas ocluido en los poros sufre una expansión (para equilibrarse con la presión impuesta al sistema), lo que implica por una parte un nivel de desgasificación de la estructura porosa del alimento, como función de la presión aplicada y, por otra, una penetración del líquido por capilaridad una vez que el equilibrio entre las presiones del sistema es alcanzado (Ashitha y Prince, 2018).

Posteriormente, cuando se restaura la presión atmosférica en un determinado tiempo de compresión, se crea un nuevo gradiente de presiones que actúa como fuerza impulsora haciendo que los espacios intercelulares o poros sean llenados parcialmente del líquido de impregnación (Fito *et al.*, 1996; Fito y Pastor 1994). Esta fase es particularmente importante, ya que es justamente en esta etapa donde se produce la impregnación del tejido y la eliminación del vacío no debe ser demasiado rápida, ya que la igualación de las presiones, de manera excesivamente rápida, puede llevar al cierre de los vasos capilares y a la inhibición del MHD (Radziejewska-Kubzdela *et al.*, 2014).

En este sentido, se ha descrito y modelado el acoplamiento de MHD con el FDR de la matriz sólida del producto (Fito, 1994; Fito y Pastor, 1994), demostrando que el volumen de la muestra cambia al final de las etapas de vacío y presión atmosférica, así como la porosidad efectiva afecta la fracción de volumen del producto impregnado por el líquido externo.

Además, este proceso también se ve afectado por otros factores tanto internos como externos, dentro de los que se puede mencionar las propiedades del tejido impregnado, la forma y el tamaño del capilar, la forma y el tamaño de la muestra, el nivel de presión de vacío aplicada, la composición y concentración de la SO, la temperatura, la relación entre la cantidad de SO y el producto, el tiempo requerido para alcanzar el vacío y la duración de tratamiento al vacío, así como la restauración de la presión atmosférica (Verma, 2017; Zhao y Xie, 2004; Fito *et al.*, 1996).

1.6. Tratamiento de IV de frutas mínimamente procesadas

La respuesta de varias frutas (manzanas, fresa, kiwi, mango y durazno) a los tratamientos de IV fue investigada por Salvatori *et al.* (1998) utilizando equipos y metodología especialmente diseñados para determinar los niveles de deformación e impregnación en las muestras. Analizaron el acoplamiento de MHD y FDR durante las fases del proceso, a presión de 50 mbar (1,5 inHg, aproximadamente) y con tiempos de vacío/relajación entre 5 y 15 min.

Posteriormente, Fito *et al.* (2001) estudiaron la factibilidad de esta técnica para el desarrollo de alimentos funcionales. Ellos obtuvieron productos fortificados con sales de hierro y calcio a partir de berenjenas y naranjas, frescas cortadas, teniendo en cuenta la solubilidad de estas sales en agua y aplicando sobre el producto una presión de vacío de 50 mbar (1,5 inHg) durante 15 min, seguido de 15 min a presión atmosférica.

Por otra parte, Xie y Zhao (2003) realizaron el enriquecimiento de manzanas con calcio y zinc, mediante IV. La SO consistió en jarabe de maíz de alta fructosa diluido (20 y 50% w/w) y las condiciones del tratamiento fueron una presión de vacío de 50 mmHg (2 inHg), durante 15 min, seguida de 30 min a presión atmosférica.

En el mismo año, Cháfer *et al.* (2003) analizaron la influencia del tipo de SO (jarabe de sacarosa o dextrosa) y su concentración en la ganancia de solutos y pérdida de agua, en pulpa y cáscara de rodajas de naranja, durante la deshidratación osmótica (DO) con previo pulso de vacío de 100 mbar (3 inHg) durante 10 min.

Por otro lado, Jeon y Zhao (2005) evaluaron la capacidad antioxidante de mieles florales silvestres y su función anti pardeamiento en manzanas frescas cortadas. Para ello, las manzanas fueron sometidas a IV con solución de miel (10%), aplicando una presión de 75 mmHg (3 inHg) durante 15 min, seguido de 30 min de relajación a presión atmosférica. Los autores reportaron que el uso de miel en combinación con la IV fue efectivo para controlar el pardeamiento y obtener manzanas frescas cortadas de alta calidad.

En el siguiente año, Lin *et al.* (2006) aplicaron un tratamiento de IV con una solución al 20% de miel polifuncional, adicionada con vitamina E. Las condiciones de tiempo usadas, fueron las mismas que las reportadas por Jeon y Zhao (2005), pero la presión de vacío fue de 100 mmHg (4 inHg). De esta manera, los autores lograron un importante incremento de vitamina E en el tejido de las peras impregnadas (80 a 100 veces), en comparación con las peras sin impregnar.

En otra investigación, realizada por Barrera *et al.* (2009), se logró el enriquecimiento de rodajas de manzanas cv. Granny Smith con calcio mediante deshidratación osmótica (DO) con previa IV. Los autores utilizaron una solución de sacarosa (50 °Brix) y, al principio del proceso de deshidratación, aplicaron una presión de vacío de 50 mbar (1,5 inHg) durante 10 min, seguido de 10 min a presión atmosférica.

Tiempo después, Hironaka *et al.* (2011) realizaron el enriquecimiento de papa entera con ácido ascórbico (AA), mediante IV, incrementando hasta tres veces el contenido inicial de AA en la muestra impregnada. La presión de vacío usada fue de 70 cmHg (27,6 inHg), aplicada durante 15, 30 y 60 min, con posterior restauración de la atmósfera durante 3 h.

Años más tarde, Neri *et al.* (2016), obtuvieron manzanas frescas cortadas de alta calidad (con propiedades sensoriales y mecánicas mejoradas) a partir de la IV con solución isotónica de sorbitol, aplicando una presión de vacío de 738 mbar (21,8 inHg) durante 10 s. En ese mismo año, Dávila *et al.* (2016), incorporaron componentes antioxidantes en la estructura de plátano verde, mediante la técnica de IV (aplicando una presión de vacío de 4,2 kPa = 1,2 inHg, durante 5 min, seguido de 5 min a presión atmosférica), mejorando así sus atributos de calidad.

Posteriormente, Quintanilla *et al.* (2018) utilizaron la IV como método para la incorporación de agentes reafirmantes en frambuesas rojas. Los autores obtuvieron una firmeza óptima en el fruto, introduciendo una solución de pectina de bajo metoxilo y cloruro de calcio mediante una presión de vacío de 50,8 kPa (15 inHg) por 7 min, seguido de 5 min a presión atmosférica.

Más recientemente, Cortez-Latorre *et al.* (2021) reportaron mejoras en la calidad y el potencial saludable de manzanas frescas cortadas, luego de la IV (67,7 mbar = 2 inHg, con tiempos de presión vacío y relajación a presión atmosférica de 10,2 y 6,2 min, respectivamente) con SO de sacarosa (30 °Brix), adicionada con ácido cítrico y ascórbico.

1.7. Generalidades sobre la miel

Es una sustancia producida por abejas melíferas (*Apis mellifera*), a partir del néctar recogido de flores, secreciones de partes vivas de plantas o excreciones de insectos chupadores de plantas, mediante evaporación de agua y acción de enzimas (secretadas por las mismas abejas), quedando almacenada en las celdillas del panal (Cauich Kumul *et al.*, 2015; García-Tenesaca *et al.*, 2018). Como el único edulcorante natural disponible, la miel ha sido un alimento importante desde la antigüedad, en primer lugar, por su sabor dulce y, posteriormente, por las propiedades médicas que se le han atribuido a lo largo de los siglos (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010).

Sus principales componentes son los azúcares y el agua (> 95%), los primeros están mayormente representados por la fructosa (39%) y glucosa (33%) (Cauich Kumul *et al.*, 2015). Pero, también se trata de una rica fuente natural de compuestos nutritivos importantes como los compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos orgánicos, compuestos derivados de carotenoides, metabolitos del óxido nítrico, aminoácidos y proteínas, componentes que son cada vez más populares, gracias a su papel de contribuir a la salud humana (Samborska *et al.*, 2019).

Sin embargo, la composición de la miel es bastante variable (Tabla 1.5) y depende principalmente de la fuente floral. Aunque, ciertos factores externos, como la estacionalidad, condiciones ambientales y el procesamiento, juegan también un papel importante (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010).

Tabla 1.5 Composición química general de la miel de abeja (g/100 g)

Componente	Valor promedio (% p/p)	Rango (%)
Agua	17,0	13,4 -26,6
Fructosa	39,3	21,7 -53,9
Glucosa	32,9	20,4 – 44,4
Sacarosa	2,3	0,0 – 7,6
Ácidos orgánicos	0,57	0,17 – 1,17
Minerales	0,17	0,02 – 1,03
Nitrógeno (proteínas y aminoácidos)	0,04	0,0 – 0,13

Fuente: Cauich Kumul *et al.* (2015)

1.8. Factibilidad de la IV con miel de mandarinas y naranjas mínimamente procesadas

Las características morfológicas de mandarinas y naranjas permiten una fácil separación, sin pérdida de la integridad estructural vesicular, haciéndolas ideales para la preparación de productos mínimamente procesados (Plaza *et al.*, 2011; Agostini *et al.*, 2013; Barrios *et al.*, 2014). La aptitud de estas frutas para la elaboración de productos frescos listos para el consumo, con propiedades bioactivas similares al fruto fresco o mejoradas, permitiría a los consumidores disponer de la frescura y sabor característico de las mismas, con el valor agregado de la practicidad de su consumo, obteniendo productos de alta conveniencia (Del Caro *et al.*, 2004; Tibola *et al.*, 2006; Pinheiro *et al.*, 2009).

Por su parte, la miel, de uso tradicional en alimentos como edulcorante natural, podría integrarse apropiadamente a frutas ácidas (como los cítricos) e incrementar la aceptabilidad de sabor. Es reconocida por su actividad antioxidante y posibles aplicaciones como agente anti pardeamiento en alimentos, atribuyendo estas propiedades a su contenido de pequeños péptidos, flavonoides y otros compuestos fenólicos, enzimas y a su bajo pH (Akbulut *et al.*, 2009; Ergun y Ergun, 2010).

A partir de las características de estos cítricos, las propiedades de la miel y la tecnología IV, aplicada en forma controlada y por períodos cortos (tratamiento suave), se podría obtener un producto listo para consumo (gajos de mandarina y octavos de naranja impregnados al vacío con miel) y con potencial valor agregado, lo que podría ser de interés comercial.

Sin embargo, para que la IV sea un proceso eficiente, es necesario considerar que se debe facilitar la transferencia de masa desde la SO al fruto (Kucner *et al.*, 2013). En este sentido, los octavos de naranja obtenidos por corte son una matriz con mayor tejido expuesto a la impregnación, comparada a los gajos de mandarina que poseen membranas semipermeables que actúan como barrera contra la difusión de la humedad y la absorción de sólidos durante el tratamiento, lo que dificulta el proceso de impregnación. Con base en lo anterior, en la siguiente sección se presentan los objetivos establecidos en la presente tesis.

2.OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El objetivo general de esta tesis fue estudiar la aplicación de miel mediante impregnación por vacío en el mínimo procesamiento de mandarinas y naranjas para lograr la adecuada incorporación de los compuestos procedentes de la misma, buscando mejorar la calidad sensorial y el potencial saludable de los productos obtenidos y, paralelamente, que los mismos mantengan su calidad de “fresco”.

2.2. Objetivos específicos

- ❖ Modelar el comportamiento de los atributos de calidad de las matrices frutales frente a una operación de impregnación por vacío con miel, variando la presión y el tiempo de tratamiento, tanto en el día de procesamiento como a los 8 días de almacenamiento refrigerado
- ❖ Optimizar la operación de impregnación por vacío encontrando las condiciones operativas (presión de vacío y tiempo de tratamiento) que mejoren la incorporación de la miel con dos matrices de tejidos de fruta con diferencias en la superficie expuesta a la impregnación: mandarinas en gajos con membrana (mayor dificultad a la impregnación) y naranjas cortadas en octavos (tejido expuesto al intercambio)
- ❖ Determinar en ensayos de almacenamiento refrigerado las respuestas a los tratamientos bajo condiciones operativas óptimas en ambas matrices vegetales

3.MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.Recepción y acondicionamiento de las materias primas

Se utilizaron mandarinas (*Citrus reticulata* Blanco) cultivar *Murcott* y naranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) cultivar *Valencia* (Figura 3.1), obtenidas en un local comercial de la ciudad de Santa Fe. Inmediatamente después de la recepción, las frutas fueron lavadas con agua de red y sumergidas en solución clorada de 200 mg/L de cloro activo, durante 3 min. Después de este tiempo, fueron escurridas por gravedad retirando la solución desinfectante restante con servilleta de papel. Finalmente, se almacenaron a $8,0 \pm 1,0$ °C y 80% HR, durante no más de tres días, hasta procesamiento.



Figura 3.1 Mandarinas (a) y naranjas (b) usadas como materia prima

La miel, usada para preparar SO, fue adquirida con apicultores de la zona de Monte Vera (Santa Fe) y se mantuvo almacenada a $22 \pm 1,0$ °C y 60% HR, hasta su utilización.

3.2.Ensayos preliminares

Para determinar el rango de las variables del proceso a estudiar, se realizaron ensayos previos usando dos concentraciones de SO de miel (30 y 50 °Brix), dos presiones de vacío (2 y 20 inHg) y tres niveles de tiempo total de tratamiento (14, 28 y 42 min). Se evaluaron los parámetros de transferencia de masa (ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso) y los cambios en textura, color y sólidos solubles totales (SS).

La concentración de SO no tuvo efecto significativo sobre la textura y color (datos no mostrados), pero sí en los parámetros de transferencia de masa y SS. Hubo mayor transferencia de masa e incremento de SS al usar SO de 50 °Brix. Por lo tanto, esta fue la concentración elegida para el ensayo experimental.

En cuanto al tiempo, se estableció el mismo rango usado anteriormente (14-42 min) y para la presión de vacío se seleccionó un rango de 2-18 inHg, a conveniencia del diseño experimental.

3.3. Ensayo experimental de IV

3.3.1. *Obtención de los gajos de mandarinas y octavos de naranjas frescas cortadas*

Las mandarinas fueron peladas manualmente, eliminando el flavedo y albedo. Las naranjas fueron sometidas a tratamiento térmico suave por inmersión en agua a 50 °C durante 5 minutos y luego en agua a 10 °C, durante 10 min. Posteriormente, se escurrieron por gravedad (en rejilla plástica) y se eliminó el exceso de humedad con servilletas de papel. Finalmente, se pelaron manualmente, eliminando el flavedo y albedo. Las mandarinas fueron separadas manualmente, respetando la membrana que recubre cada gajo, mientras que las naranjas fueron cortadas en octavos, realizando cortes de forma longitudinal con un cuchillo de filo liso.

3.3.2. *Tratamiento de IV suave con SO de miel*

Para cada ensayo se pesaron 800 ± 5 g de gajos de mandarina u octavos de naranja y se colocaron en una canasta de red plástica que fue sumergida en la SO de miel (50 °Brix) que estaba contenida en un recipiente apto para vacío, con las conexiones *ad hoc* para conectar una bomba de vacío. Los tratamientos se llevaron a cabo de acuerdo al diseño experimental (que se describe en ítem 3.4), usando una relación fruta/solución osmótica de 1:6 (kg/L). Al término del tratamiento, las muestras fueron escurridas por gravedad durante 3 min, se eliminó el resto de la solución de impregnación apoyando las muestras sobre servilletas de papel absorbente (1 min de cada lado) y se registró el peso final.

Parte de la muestra tratada se analizó inmediatamente después de la IV, junto con muestra fresca sin tratar, para determinar el efecto del tratamiento sobre las respuestas evaluadas. Adicionalmente, otra parte de la muestra tratada (200 ± 5 g) se almacenó en cámara frigorífica (2.0 ± 0.5 °C), durante 8 días, para analizar el efecto del tratamiento después del almacenamiento.

Para el almacenamiento de las muestras se utilizaron recipientes de tereftalato de polietileno (PET) de 0,42 mm de espesor, área superficial de 0,045 m², con permeabilidad para O₂= 4,73 x 10⁻¹⁵ – 9,617 x 10⁻¹⁵ Kg m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹ (a 23 °C y 0% de humedad relativa) y vapor de agua= 1,3x10⁻⁷ – 2,08x10⁻⁷ Kg m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹ (a 38 °C y 90% de humedad relativa).

En la figura 3.2 se muestra un diagrama general del proceso realizado durante los ensayos de impregnación de mandarinas y naranjas mínimamente procesadas.

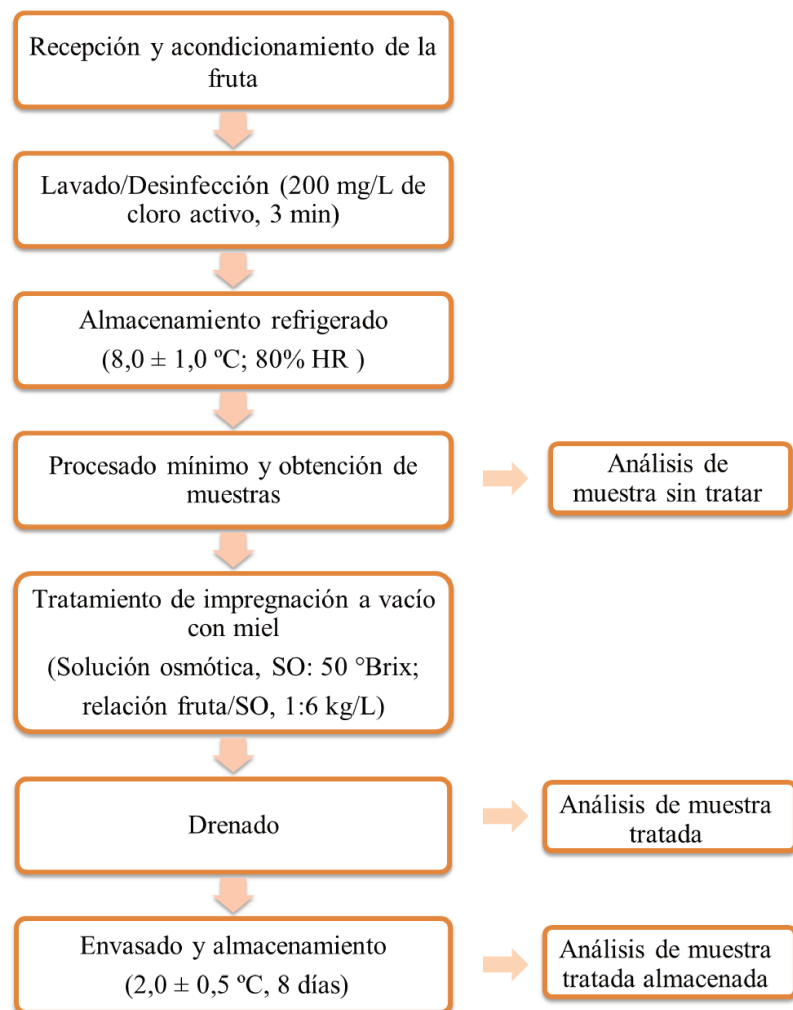


Figura 3.2 Diagrama general de proceso de impregnación a vacío con solución osmótica (50 °Brix) de miel para mandarinas y naranjas mínimamente procesadas

3.4. Diseño experimental

Los ensayos se efectuaron siguiendo la metodología de superficie de respuesta a través de un diseño factorial con tres niveles y 2 factores (conformado por 11 experiencias en total: 9 combinaciones + 2 repeticiones del punto central). Los factores fueron la presión de vacío (2, 10 y 18 inHg) y el tiempo de tratamiento (14, 28 y 42 min). El tiempo de tratamiento correspondía a la suma del tiempo de aplicación de vacío más el tiempo de relajación a presión atmosférica. Es decir, las muestras fueron sometidas a presión de vacío durante la mitad del tiempo de tratamiento, luego la atmósfera fue restaurada y las muestras permanecieron a presión atmosférica durante la otra mitad del tiempo de tratamiento.

Las respuestas evaluadas fueron: parámetros de transferencia de masa, estimados como se describe en la sección 3.6.1, cambios en actividad de agua (Ca_w), estimados según la ecuación 3.1 y los cambios en color (CL^*_i , Ca^*_i , Cb^*_i , CC^*_{abi} , y Ch_{abi}), parámetros de textura: firmeza (CF_i) y coeficiente de elasticidad (CCE_i), sólidos solubles (CSS_i), pH (CpH_i), fenoles totales (CFT_i), ácido ascórbico (CAA_i), vitamina C ($CVitC_i$), capacidad antioxidante (CCA_i), Narirutina ($CNar_i$) y Hesperidina ($CHesp_i$) estimados según la ecuación 3.2.

$$Ca_w (\%) = ((X_i - X) / X) * 100 \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

$$\text{Cambio } (\%) = (X_i / X) * 100 \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

Donde X_i es el valor promedio del atributo evaluado en la muestra tratada al tiempo i (0 u 8 d del almacenamiento), X es el valor promedio de la muestra fresca sin tratar, tal como se indica en la Figura 3.2.

Posteriormente, se estableció la siguiente función matemática para cada una de las respuestas, en relación a los dos factores independientes:

$$y_i = f(P, t) \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

Donde y_i = respuesta en el día i de almacenamiento, P = presión de vacío y t = tiempo de tratamiento.

La ecuación propuesta para los modelos fue:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 P + \beta_2 t + \beta_{12} P t + \beta_{11} P^2 + \beta_{22} t^2 + \varepsilon_{12} \quad (\text{Ecuación 3.4})$$

Donde $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}, \beta_{11}, \beta_{22}$ son los coeficientes y ε_{12} = error.

3.5. Optimización y validación

Una vez desarrollados los modelos matemáticos para cada respuesta [$y_i = f(P, t)$] en función de las variables de proceso, se determinaron las condiciones óptimas de P y t para el tratamiento de IV de cada fruta. Para esto, se utilizó la función de deseabilidad de Derringer (Derringer y Suich, 1980), que permite la optimización simultánea de múltiples respuestas.

El método consiste en seleccionar las respuestas (y_i) a incluir en el proceso de optimización, transformando cada una de las respuestas en una función parcial de deseabilidad adimensional, d_i ($0 \leq d_i \leq 1$). Los valores de d_i para cada respuesta son obtenidos especificando los objetivos (minimizando, maximizando o fijando un valor objetivo) y condiciones de contorno necesarias para cada respuesta. Las funciones parciales de deseabilidad están combinadas en una sola respuesta compuesta, la función global de deseabilidad (D), definida como la media geométrica de los diferentes valores de d_i :

$$D = [d_1^{p_1} \times d_2^{p_2} \times \dots \times d_n^{p_n}]^{1/n} \quad (\text{Ecuación 3.5})$$

Donde, p_1, p_2 y p_n corresponden a la importancia relativa asumida para cada respuesta. La importancia relativa puede ir desde 1 (menos importante) hasta 5 (más importante) (Prakash Maran y Manikandan, 2012). Se debe asignar un factor de peso, que defina la forma de la función de deseabilidad. Los factores de peso deben estar entre 0,1 y 10, los pesos altos corresponden a las respuestas más importantes.

Un valor de deseabilidad diferente de cero, implica que las respuestas se encuentran en un rango simultáneo deseable y consecuentemente para un valor de D cercano a 1, la combinación del criterio es globalmente óptima (Van de Velde *et al.*, 2014).

Para la validación de los modelos obtenidos para cada respuesta incluida en el proceso de optimización, se realizaron ensayos adicionales de IV bajo las condiciones óptimas de P y t obtenidas. Estos ensayos se llevaron a cabo de acuerdo al procedimiento descrito en el ítem 3.3. Posteriormente, los resultados experimentales obtenidos en la validación se compararon estadísticamente con los valores predichos por los modelos para determinar si existían diferencias significativas.

3.6. Determinaciones analíticas

3.6.1. Parámetros de transferencia de masa

Antes y después de cada tratamiento, la muestra fue pesada y se determinó su contenido de humedad, con la finalidad de estimar la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR). Dichos parámetros, se determinaron únicamente en las muestras recién tratadas, mediante las ecuaciones 3.6, 3.7 y 3.8, respectivamente, y fueron expresados en porcentaje (%):

$$SG(\%) = \frac{(M_f * (100 - H_f)) - (M_i * (100 - H_i))}{M_i} \quad (\text{Ecuación 3.6})$$

$$WL(\%) = \frac{(M_i * H_i) - (M_f * H_f)}{M_i} \quad (\text{Ecuación 3.7})$$

$$WR(\%) = WL - SG \quad (\text{Ecuación 3.8})$$

Donde M_i = masa inicial de muestra (g), M_f = masa final de muestra (g), H_i = humedad inicial de muestra (%) y H_f = humedad final de muestra (%).

La humedad se determinó mediante un analizador de humedad PMR50 (RADWAG, Polonia). Se realizaron ensayos previos para establecer la cantidad de muestra (3 - 10 g) y temperatura (80 – 100 °C) adecuadas.

La humedad fue determinada a partir de 5 g de la muestra homogeneizada, estableciendo una temperatura en el equipo de 80 °C. Adicionalmente, este método fue comparado con el método tradicional 934.06 de la AOAC (1990), para corroborar su efectividad, utilizando una estufa de secado a 65 °C (Tabla 3.1). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las determinaciones de humedad realizadas con el método tradicional y las realizadas con el analizador PMR50 (Radwag).

Tabla 3.1 Determinación de humedad de gajos mandarina por el método tradicional (Estufa) vs equipo PMR50 (Radwag)

Repetición	Estufa	Equipo
1	88,12	88,20
2	87,95	87,86
3	87,88	88,10
4	87,80	88,40
5	87,90	88,33
Promedio	87,93	88,17

3.6.2. Color

El color se determinó según Piagentini y Pirovani (2017), utilizando un espectrofotómetro Minolta CM-508d (Tokio, Japón) a 10° de ángulo del observador, con iluminante D65 y componente especular excluido (SCE). Se evaluaron los componentes del sistema CIE: L*, a*, b*, que son coordenadas rectangulares, donde L* (índice fotométrico) mide el grado de luminosidad o claridad que va del negro al blanco (0-100) y los parámetros a* y b* (índices cromáticos), van de rojo-verde y amarillo-azul, respectivamente (Figura 3.3). Se estimaron también los parámetros C*_{ab} (croma) y h_{ab} (ángulo de tono) que son coordenadas cilíndricas definidas a partir de a* y b* ($C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5}$ y $h_{ab} = \arctg b^*/a^*$) y que van del rojo al azul, donde 0°: rojo; 90°: amarillo; 180°: verde; 270°: azul. Se reportó un promedio de 10 mediciones, por tratamiento.

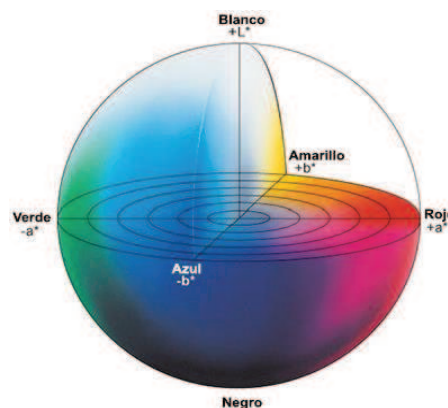


Figura 3.3 Coordenadas básicas de color (disponible en: <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>)

3.6.3. Textura

La textura se determinó mediante un analizador de textura TA-XT Plus (Stable Micro System), mediante un test de penetración, utilizando una sonda cilíndrica de 8 mm de diámetro. El ensayo se realizó en 10 gajos por tratamiento, cada gajo se colocó de forma perpendicular a la sonda. La distancia y velocidad de penetración fueron de 10 mm y 2 mm/s, respectivamente, usando una celda de carga de 5 kg. Mediante el programa Exponent, se registró la curva de fuerza vs tiempo (Figura 3.4), a partir de la cual se obtuvieron los parámetros considerados para definir la textura: firmeza (F), expresada en Newton (N) y el coeficiente de elasticidad (CE) de la curva fuerza vs tiempo (N/s).

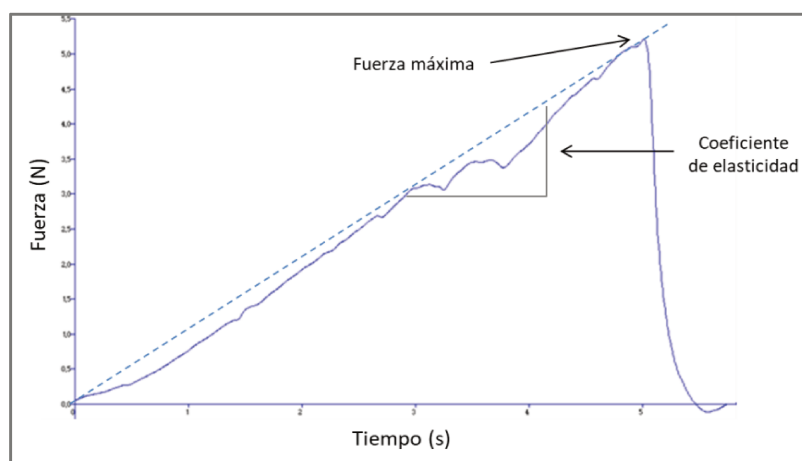


Figura 3.4 Curva fuerza vs tiempo del test de penetración

3.6.4. Actividad de agua (a_w), contenido de sólidos solubles (SS) y pH

El a_w se determinó por duplicado, con un medidor de a_w Aqua LAB (modelo CX-2T, Decagon Devices, Inc., USA). El contenido de SS fue medido por triplicado, mediante un refractómetro portátil digital PAL-ALFA (Atago Co. 124 Ltd, Tokio, Japón) y reportado en °Brix. Finalmente, el pH se determinó por triplicado, mediante un pHmetro Cardy Twin B-113 (Horiba Ltd. Kyoto, Japón).

3.6.5. Contenido de ácido ascórbico y Vitamina C

El ácido ascórbico (AA) y la vitamina C (VitC) o ácido ascórbico total (AAT), correspondiente a la suma del AA + ácido dehidroascórbico, se determinaron según la metodología propuesta por Van de Velde *et al.* (2012).

Para la obtención de los extractos de muestra, se tomaron 5 g de pulpa homogeneizada y se agregó 25 mL de solución extractante para AA (Solución acuosa de ácido metafosfórico al 3% y ácido acético al 8%). La mezcla se homogeneizó en vórtex por 1 min, se sonicó en ultrasonido por 15 min (a 10 °C, para evitar pérdidas por oxidación) y se centrifugó a 12000 g durante 20 minutos, en centrífuga refrigerada a 4°C. Posteriormente, se separaron los sobrenadantes.

Para determinar AA, se tomó 1 mL del extracto y se agregó 5 mL de fase móvil (FM) para AA (solución buffer 0.03 mol L⁻¹ de acetato de sodio/ácido acético, metanol 5%, llevado a pH 5.8), se homogeneizó en vórtex y se filtró con una membrana Millipore de 0,45µM. Para determinar VitC, se tomó 1 mL del extracto y se agregó 0,2 mL de solución de DTT (DL-ditiotreitol 5 g/L, preparado en fosfato de potasio dibásico, K₂HPO₄ 2,58M) (Odrizola-Serrano *et al.*, 2007). Esta mezcla se dejó reaccionar en oscuridad por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se agregó 4,8 mL de FM para AA, se homogeneizó en vórtex y se filtró mediante una membrana Millipore de 0,45 µm. Ambas muestras fueron resguardadas de la luz a -20 °C, para su posterior análisis en HPLC.

Las determinaciones de AA y Vit C se realizaron usando un equipo de HPLC (SHIMADZU LC-20AT, USA), que posee un detector de arreglo de diodo y está equipado con una columna de fase reversa Gemini 5µ C18/110A unida a un guarda-columna (Phenomenex Inc., CA. EE.UU.).

Las muestras se inyectaron en forma manual en el equipo y se trabajó bajo condiciones isocráticas y a temperatura ambiente. La velocidad de flujo fue de 1.0 mL min⁻¹ y las mediciones se hicieron a 265 nm. Se registraron las áreas obtenidas a partir de los cromatogramas de cada muestra (Figura 3.5) y se compararon contra curva de calibrado de AA y VitC, según correspondía. Los resultados se expresaron en mg AA o AAT por Kg de fruta fresca (FF).

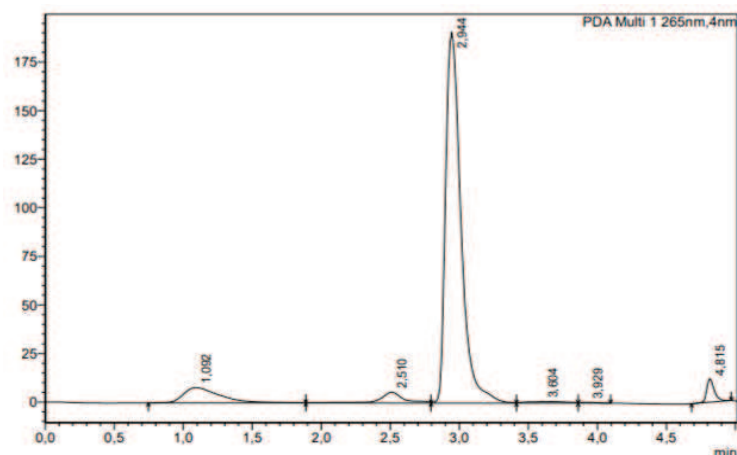


Figura 3.5 Cromatograma de ácido ascórbico obtenido para octavos de naranja impregnados con miel

Para obtener de las curvas de calibrado de AA y VitC, se preparó una solución madre de AA ($4,0 \text{ g L}^{-1}$), disolviendo 0,1 g de AA (previamente secado durante 1 h en estufa a 105°C), en 25 mL de SE. Para la curva de AA, se tomó 4 mL de la solución madre y se agregó 10 mL de FM para AA. Para la curva de VitC, se tomó 4 mL de la solución madre, se agregó 1,3 mL de solución de DTT y se dejó reaccionar por 2 h en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se diluyó en 10 mL de FM para AA. A partir de estas soluciones, se realizaron diluciones con FM para AA y se obtuvieron soluciones estándares de 0 a 80 ppm, que fueron inyectadas en el HPLC. Posteriormente, se graficaron las áreas en función de las concentraciones (Figuras 3.6 y 3.7).

A partir de la ecuación de las curvas, se determinó el contenido de AA y VitC de la muestra, según correspondía, utilizando la ecuación 3.9.

$$\text{AA o VitC (mg Kg}^{-1}\text{ FF)} = \frac{A_m - a_{\text{curva}}}{b_{\text{curva}} * fd} * \frac{V_{\text{extracto}}}{m} \quad (\text{Ecuación 3.9})$$

Donde: A_m : Es el área de la muestra; a_{curva} : ordenada al origen de la curva de calibrado de AA o VitC; b_{curva} : pendiente de la curva de calibrado de AA o VitC; fd : factor de dilución del extracto de la muestra; V_{extracto} : volumen (mL) de la solución extractante; m : masa de la muestra en g.

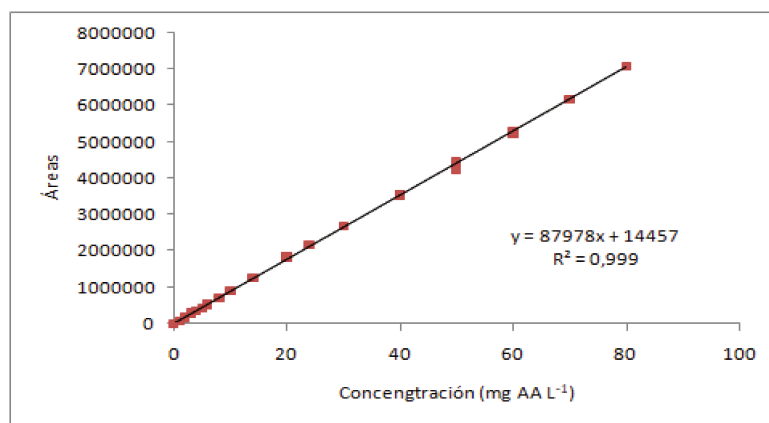


Figura 3.6 Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA)

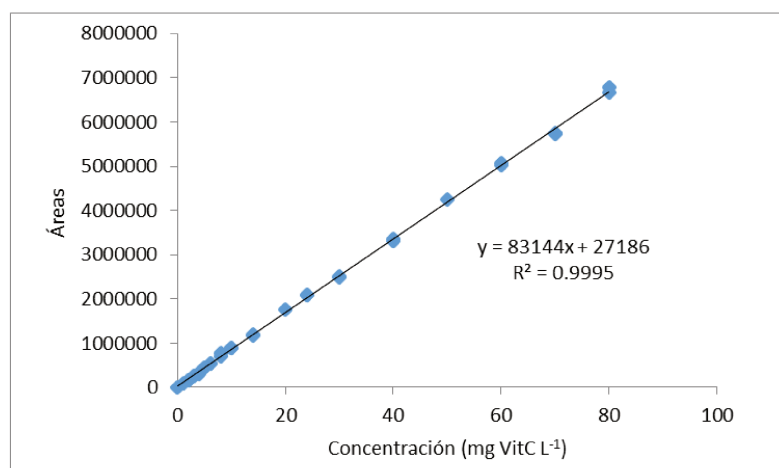


Figura 3.7 Curva de calibrado de vitamina C (VitC)

3.6.6. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante

Se preparó el extracto de muestra tomando 2,5 g de pulpa homogeneizada y mezclando con 25 mL de solución extractante (acetona/agua, 80:20). La mezcla se sonicó durante 15 min en ultrasonido a 10 °C y luego se centrifugó a 12.000 g durante 20 min a 4 °C, en centrífuga refrigerada (Heal Force Neofuge 18R, Shangai, China). Concluido este procedimiento, el sobrenadante fue separado y almacenado a -20°C, en tubos falcon de 15 mL, para su posterior análisis.

El contenido de fenoles totales (FT) fue estimado por espectrofotometría, usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C), según Singleton y Rossi (1965). Adicionalmente, se aplicó la metodología propuesta por Cortez *et al.* (2018) para descartar la interferencia por la actividad reductora de la VitC. Lo anterior, considerando que bajo condiciones ácidas (pH≈3) del reactivo de F-C, los ácidos

ascórbico y dehidroascórbico (entre otros compuestos) reaccionan rápidamente con el polifosfotungstato, dando un color azul justo después de mezclar la muestra con el reactivo y antes de la adición del álcali, sesgando así los resultados en la determinación del contenido de fenoles totales (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).

Inicialmente, se determinó la absorbancia del extracto de muestra, para lo cual se tomaron 0,25 mL de extracto y se adicionaron con 0,25 mL del reactivo de F-C y 1 mL de agua destilada. La mezcla se agitó en vórtex y se dejó reposar durante 3 min. Luego se agregó 0,5 mL de una solución saturada de Na_2CO_3 (10%) y se completó a 5 mL con agua destilada. Posteriormente, se centrifugó a 3.500 g, durante 15 min y se dejó reposar 15 min más, en oscuridad. Los blancos de reactivo se prepararon reemplazando el volumen de la muestra por solución extractante. Se midió la absorbancia de las muestras a 760 nm en un espectrofotómetro (Genesys 5, Milton Roy, Ivyland, USA). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Por otra parte, se preparó una solución madre de ácido gálico (AG) de 100 mg L^{-1} , a partir de la cual se obtuvieron soluciones estándares con concentraciones de 20 a 80 mg L^{-1} . Se tomaron alícuotas de 0,25 mL de cada solución estándar y se procesaron de la misma forma que el extracto de muestra. De esta manera, se obtuvo por regresión lineal la curva de calibrado de absorbancia vs concentración de AG (Figura 3.8).

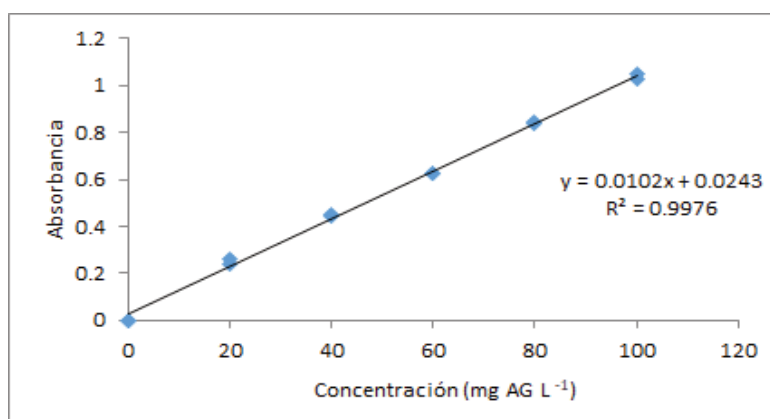


Figura 3.8 Curva de calibrado de ácido gálico (AG) para la determinación del contenido de fenoles totales

Paralelamente, se elaboró una curva de calibrado de AA, bajo las mismas condiciones que la curva de calibrado de AG por el método de F-C, preparando soluciones estándares de AA en el rango de concentraciones de 20-140 ppm (Figura 3.9).

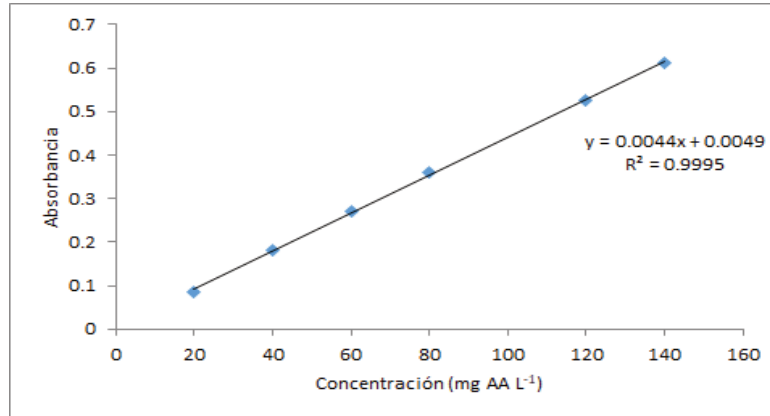


Figura 3.9 Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA) para la corrección del contenido de fenoles totales

Finalmente, el contenido de FT, sin la interferencia de VitC, se obtuvo a partir de la ecuación 3.10 y se expresó en mg de AG por kg de fruta fresca (mg AG kg⁻¹ FF).

$$FT \text{ (mg AG Kg}_{FF}^{-1}) = \left(\frac{(Abs_{FT} - (a_{AA} + b_{AA}(Vit_{HPLC} * (m_{HPLC}/V_{HPLC}))) - a_{AG})}{b_{AG}} \right) * \frac{V_{FT}}{m_{FT}}$$

(Ecuación 3.10)

Donde Abs_{FT}: absorbancia correspondiente a FT por F-C; a_{AA}: ordenada al origen de la curva de calibrado de AA por F-C; b_{AA}: pendiente de la curva de calibrado de AA por F-C; Vit_{HPLC}: concentración de vitC determinado por HPLC; m_{HPLC}: masa de muestra usada para determinación de VitC por HPLC; V_{HPLC}: volumen de solución extractante usada para determinar VitC por HPLC; a_{AG}: ordenada al origen de la curva de calibrado de AG; b_{AG}: pendiente de la curva de calibrado de AG; V_{FT}: volumen de la solución extractante usada para determinar FT por F-C; m_{FT}: masa de la muestra usada para determinar FT por F-C.

La capacidad antioxidante (CA) se determinó según Sánchez-Moreno *et al.* (2003). La actividad antiradicalaria se cuantificó por la medida de la disminución de la absorbancia de una solución metanólica del radical libre DPPH* (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) a 517 nm en presencia de alícuotas del extracto de la muestra. La concentración inicial de DPPH* fue de 0.03 g L⁻¹ y las medidas de absorbancia se realizaron por espectrofotometría, luego de dejar reaccionar las muestras durante 30 min. Los cálculos se realizaron de acuerdo a la siguiente ecuación 3.11.

$$\%DPPH^*_{\text{remanente}} = \left[\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100 \quad (\text{Ecuación 3.11})$$

Donde A_{control} corresponde a la absorbancia de 3.9 mL de solución de DPPH* mezclado con un volumen de metanol igual al volumen de extracto de muestra agregado en el tubo correspondiente, mientras que A_{muestra} es la absorbancia de 3.9 mL de DPPH* adicionado con un volumen entre 0,020 y 0,800 mL de extracto (para mandarina) o 0,050 y 0,250 mL de extracto (para naranja).

Se calculó el IC_{50(muestra)} definido como la cantidad de muestra en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de porcentaje de DPPH* remanente *vs* concentración (mg de fruta mL⁻¹ de reacción). El análisis se realizó por duplicado y los resultados se expresaron como la capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC), a partir de la ecuación 3.12.

$$AEAC \left(\frac{\text{mgAA}}{\text{kg FF}} \right) = \frac{IC_{50(AA)}}{IC_{50(muestra)}} \times 10^6 \quad (\text{Ecuación 3.12})$$

Donde IC_{50(AA)} es la cantidad de ácido ascórbico en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida en la gráfica de %DPPH* remanente *vs* concentración (mg de AA mL⁻¹ reacción).

Para calcular el IC_{50(AA)} se preparó una curva de calibrado de ácido ascórbico (AA) (0 – 0.207 mg mL⁻¹), se mezclaron 3.9 mL de solución de DPPH* con 0.1 mL de cada dilución y se midieron los valores de absorbancia luego de media hora de reacción (tiempo que la reacción alcanza un estado estacionario luego de la adición de AA). La curva se realizó por triplicado y se calculó el valor de IC_{50(AA)} = 4.04 10⁻³ mg mL⁻¹.

3.6.7. Identificación y cuantificación de glucósidos flavonoides

El extracto de muestra, para el análisis de flavonoides, se obtuvo a partir de 5 g de pulpa homogeneizada que se mezclaron con 4 mL de solución extractante para flavonoides (80% metanol:19,5% agua:0,5% ácido acético). La mezcla se colocó en ultrasonido por 15 min a 50 °C y fue centrifugada a 12.000 g durante 20 min a 4 °C, en centrífuga refrigerada. Se separó el sobrenadante en matraz de 25 mL. Se realizaron dos extracciones más en el pellet (agregando 8 mL de solución extractante en cada una) y se combinaron los tres sobrenadantes, llevando a volumen final de 25 mL con la solución extractante. Las extracciones se realizaron por duplicado en cada muestra. Los extractos fueron filtrados en membranas millipore 0,45 µM y se mantuvieron resguardadas de la luz a -20 °C, hasta su análisis.

Los extractos obtenidos se analizaron en HPLC, utilizando una columna en fase reversa Gemini 5µ C18/110A unida a un guarda-columna (Phenomenex Inc., CA. EE.UU.). La fase móvil consistió en ácido fórmico (1%) en agua (A) y acetonitrilo 100% (B). La velocidad de flujo fue de 1 mL min⁻¹ a 25 °C, con un gradiente que consistía en: 90–75% de (A) durante 30 min; seguido de 75–40% de (A) por 30 a 45 min. Se esperaron 5 min entre muestras para volver el gradiente a las condiciones iniciales.

A partir de los cromatogramas obtenidos, se encontraron 3 picos principales, que correspondían a narirutina, hesperidina y un derivado de flavanona. Se cuantificó la narirutina (Nar) y hesperidina (Hesp), para lo cual se registraron las áreas a 280 nm (Figura 3.10) y se realizó el cálculo usando como referencia una curva de calibrado con estándar de Hesp (0.025-1 mg mL⁻¹). Los resultados se expresaron como (mg Kg⁻¹ de fruta fresca),

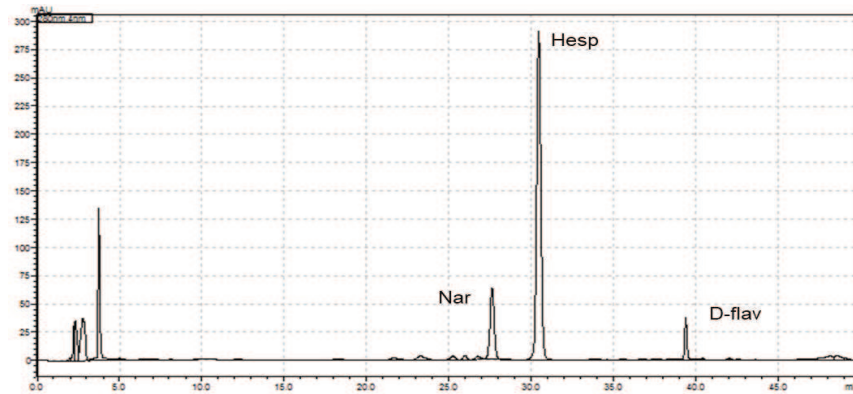


Figura 3.10 Cromatograma del perfil de flavanonas identificadas en naranja valencia: narirutina (Nar); hesperidina (Hesp); derivado de flavanonas (D-flav)

3.7. Análisis microbiológico

Se realizó en las muestras correspondientes a la validación de los modelos, día 0 y 8. Se tomaron 10 g de pulpa homogeneizada (mandarina o naranja, según correspondía) de forma aséptica y se colocó dentro de una bolsa estéril. Se agregaron 90 mL de agua de peptona (0.1%) y se mezclaron uniformemente durante 2 minutos en *stomacher*. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones decimales en tubos con 9 mL de agua de peptona (0.1%), para las determinaciones microbiológicas:

- *Aerobios mesófilos totales (AMT)*: Se sembró 1 mL en profundidad de cada dilución (por duplicado), usando como medio de cultivo agar de recuento en placa (PCA, Merck, St Louis, MO, USA). Las placas se incubaron a 30°C durante 48 h.
- *Mohos y levaduras (MyL)*: Se sembró 1 mL en profundidad de cada dilución (por duplicado), usando como medio de cultivo agar extracto de levadura, glucosa y cloranfenicol (YGC, Merck). Las placas se incubaron durante 5 días a 28°C.
- *Psicrótrofos totales (Psic)*: Se sembró 1 mL en profundidad de cada dilución (por duplicado), usando como medio de cultivo agar de recuento en placa (PCA, Merck, St Louis, MO, USA). Las placas se incubaron a 5°C durante 10 días.

Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por gramo de fruta (UFC g⁻¹) (FDA, 2018).

3.8. Análisis sensorial

El análisis del perfil sensorial de las muestras de mandarinas y naranjas mínimamente procesadas, correspondientes a la validación de los modelos, se llevó a cabo mediante un test descriptivo cuantitativo (Hough y Witting, 2005). Para ello, se requirió del panel sensorial entrenado del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), formado por 9 jueces (2 hombres y 7 mujeres), con experiencia en evaluar calidad de vegetales frescos.

Durante un entrenamiento específico (5 sesiones de aproximadamente 30 minutos) los panelistas definieron cuáles serían los principales descriptores (atributos y defectos) a incluir en el análisis y discutieron sobre el significado de cada uno (Atributos: olor típico, olor a miel, color típico, brillo, textura, jugosidad, dulzor, acidez, sabor típico y sabor miel. Defectos: olor extraño, sabor extraño).

Los descriptores seleccionados se pueden definir de la siguiente manera:

- *Olor típico*: relacionado con el olor natural, típico de una mandarina o naranja, según correspondía
- *Olor a miel*: referente al olor típico de la miel
- *Olor extraño*: relacionado con la percepción de olores que no corresponden al olor típico de los cítricos: fermentado, terroso, alcohólicos, moho, etc.
- *Color típico*: referente al color natural, típico de una mandarina o naranja, según corresponda.
- *Brillo*: relacionado con el brillo típico de la fruta
- *Textura*: relacionado con la resistencia del tejido de la fruta a romperse o deformarse durante la masticación.
- *Jugosidad*: relacionada con la cantidad de jugo percibida durante el consumo
- *Dulzor*: referente al sabor dulce natural de una fruta cítrica
- *Acidez*: referente al sabor ácido agudo
- *Sabor típico*: relacionado al sabor característico de una fruta cítrica
- *Sabor a miel*: referente al sabor típico de la miel
- *Sabor extraño*: relacionado con la percepción de sabores atípicos: fermentado, terroso, alcohólicos, etc.

Para el entrenamiento del panel se emplearon distintas muestras de mandarina/naranja: 1) muestras frescas sin impregnar, 2) muestras impregnadas bajo condiciones de presión de vacío y tiempo dentro del rango experimental (2-18 inHg; 14-42 min) 3) muestras impregnadas y almacenadas.

Las muestras almacenadas, fueron envasadas y almacenadas bajo las mismas condiciones que las muestras usadas en las determinaciones analíticas para todos los ensayos (ítem 3.3). Cada muestra se identificó con números de tres dígitos aleatorios.

Se entregó a cada evaluador una planilla que incluía los descriptores elegidos por consenso y se le indicó que registrara la intensidad de cada descriptor con una marca sobre una escala lineal no estructurada (de 10 cm), que tenía términos ancla ubicados a 1 cm de cada extremo.

La cuantificación de las respuestas se hizo midiendo la distancia desde el extremo izquierdo hasta la marca señalada por el panelista, expresándose en cm. Los términos anclas fueron los siguientes (de izquierda a derecha): “1: ligeramente perceptible” y “9: intenso” para olor típico, olor a miel, olor extraño, dulzor, acidez, sabor típico, sabor a miel y sabor extraño; “1: leve y “9: intenso” para color típico; “1: opaco” y “9: muy brillante” para brillo; y “1: blanda” y “9: firme” para textura (Figura 3.11).

3.9. Análisis estadístico

Se utilizó el programa STATGRAPHICS Centurion XV.II (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE. UU.) para realizar el análisis de los datos a través del ANOVA, ajustar los modelos propuestos, obtener los coeficientes de las ecuaciones y encontrar condiciones operativas optimizadas. El test HSD de Tukey se utilizó para la comparación de medias. Previamente, también se realizaron pruebas para verificar que los residuales cumplieran los supuestos de normalidad, independencia y aleatoriedad. Se evaluó la significancia de cada término del modelo y se refirió a los residuos totales. Para la verificación de la adecuación del modelo se calculó la prueba de falta de ajuste y la determinación del coeficiente de determinación R^2 . Cada modelo completo se redujo mediante el procedimiento de regresión lineal “*stepwise*”.

**EVALUACIÓN SENSORIAL DE NARANJA MÍNIMAMENTE PROCESADA
PRUEBA DESCRIPTIVA**

NOMBRE: _____ FECHA _____

Usted recibirá dos muestras codificadas de naranja mínimamente procesada. Evalúe cuidadosamente los descriptores que se indican y marque en la escala correspondiente.

¡Gracias por su participación!

Olor típico	
Olor a miel	
Olor extraño	
Color típico	
Brillo	
Textura	
Jugosidad	
Dulzor	
Acidez	
Sabor típico	
Sabor a miel	
Sabor extraño	

Figura 3.11 Planilla usada para el análisis sensorial descriptivo cuantitativo

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la miel

Se utilizaron dos lotes de miel durante el desarrollo de la investigación, uno para el diseño experimental de cada fruta y otro para los ensayos de validación, mismos que fueron caracterizados en cuanto a sus atributos fisicoquímicos y potencial saludable (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Características de la miel usada durante los tratamientos de impregnación del diseño experimental (2019) y los ensayos de validación de los modelos (2020)

Parámetro	2019	2020
L*	23,7 ± 0,5 ^a	24,0 ± 0,7 ^a
a*	8,2 ± 0,7 ^a	3,6 ± 0,1 ^b
b*	17,8 ± 1,8 ^a	12,1 ± 0,7 ^b
C* _{ab}	19,6 ± 2,0 ^a	12,6 ± 0,7 ^b
h _{ab}	65,1 ± 0,3 ^a	73,4 ± 0,9 ^b
SS (°Brix)	81,0 ± 0,1 ^a	80,2 ± 0,3 ^b
pH	3,5 ± 0,1 ^a	2,8 ± 0,1 ^b
a _w	0,592 ± 0,0 ^a	0,583 ± 0,0 ^a
FT (mg AG Kg ⁻¹ miel)	561,7 ± 7,3 ^a	467,6 ± 14,1 ^b
VitC (mg AAT Kg ⁻¹ miel)	19,7 ± 0,9 ^a	13,9 ± 0,7 ^b
CA (mg AA Kg ⁻¹ miel)	165,6 ± 5,4 ^a	129,2 ± 16,9 ^b

L*, a*, b*, C*_{ab} y h_{ab}: parámetros del sistema CIELAB; SS: sólidos solubles; FT: fenoles totales; VitC: vitamina C; CA: capacidad antioxidante. Letras distintas en la misma fila, indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con Tukey HSD

Se observaron diferencias significativas entre ambos lotes ($p \leq 0,05$). La luminosidad fue similar, pero la miel usada en el desarrollo del diseño experimental tenía una tonalidad general ligeramente más intensa y rojiza (mayor valor de a*, b* y C*_{ab}, menor valor de h_{ab}), era menos ácida (mayor pH) y tenía mayor contenido de fenoles totales, vitamina C y capacidad antioxidante.

En este sentido, se ha demostrado que hay una correlación positiva entre el color de la miel y su contenido de compuestos fenólicos (principalmente flavonoides) y, por lo tanto, en la capacidad antioxidante (Ciappini *et al.*, 2013). Por lo que se atribuye un mayor contenido fenólico y mayor capacidad antioxidante a mieles con tonalidades rojizas u oscuras, en comparación con mieles más claras.

Adicionalmente, se sabe que la composición de la miel depende principalmente de las fuentes florales utilizadas por las abejas para su producción, pero la estacionalidad, condiciones regionales y ambientales, así como de procesamiento tienen también un importante impacto (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010).

4.2. Tratamiento de IV suave de gajos de mandarina con SO de miel

4.2.1. Caracterización de los gajos de mandarinas

Para evaluar el cambio en las respuestas ensayadas en los gajos de mandarina, se realizó el análisis fisicoquímico y del potencial saludable en muestras frescas sin tratar, tanto para las mandarinas usadas en el diseño experimental como las usadas en ensayos de validación (Tabla 4.2).

Se observaron diferencias significativas entre ambos lotes, lo que es muy común en frutas y hortalizas, aun siendo de la misma variedad, ya que su composición y características dependen de diversos factores tanto externos como propios del fruto (Pirovani *et al.*, 2015).

Tabla 4.2 Características iniciales de gajos de mandarinas frescos usados para los ensayos de impregnación correspondientes al diseño experimental (2019) y la validación de los modelos (2020)

Respuesta	2019	2020
L*	41,7 ± 1,8 ^a	40,9 ± 1,8 ^a
a*	12,3 ± 1,5 ^a	10,1 ± 1,9 ^b
b*	21,6 ± 2,5 ^a	22,7 ± 3,1 ^a
C* _{ab}	24,9 ± 2,8 ^a	24,8 ± 3,6 ^a
h _{ab}	60,2 ± 1,6 ^a	65,8 ± 1,1 ^b
Firmeza (N)	4,7 ± 0,7 ^a	6,0 ± 1,0 ^b
Coefficiente elasticidad (N/s)	1,3 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,3 ^b
Sólidos solubles (°Brix)	11,2 ± 0,2 ^a	12,4 ± 0,6 ^b
pH	4,0 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,1 ^b
a _w	0,989 ± 0,002 ^a	0,988 ± 0,002 ^a
Fenoles totales (mgAG Kg ⁻¹ FF)	446,9 ± 60,0 ^a	135,7 ± 22,0 ^b
Ácido ascórbico (mg Kg ⁻¹ FF)	125,1 ± 4,3 ^a	289,9 ± 4,1 ^b
Vitamina C (mg AAT Kg ⁻¹ FF)	148,6 ± 13,7 ^a	329,9 ± 5,2 ^b
Capacidad antioxidante (mg AA Kg ⁻¹ FF)	361,2 ± 5,7 ^a	384,5 ± 4,9 ^b
Narirutina (mg Kg ⁻¹ FF)	273,0 ± 7,6 ^a	292,5 ± 12,4 ^a
Hesperidina (mg Kg ⁻¹ FF)	478,2 ± 12,7 ^a	585,3 ± 38,9 ^b

L*, a*, b*, C*_{ab} y h_{ab}= parámetros del sistema CIELAB; Letras distintas en la misma fila, indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con Tukey HSD

4.2.2.Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los parámetros de transferencia de masa y la a_w

Se obtuvieron los valores experimentales de los parámetros de transferencia de masa (SG, WL, WR) y los cambios en a_w (Caw) de los gajos de mandarina, luego de la impregnación a vacío (Tabla 4.3). Los ANOVAs de los modelos propuestos para estas respuestas, indicaron que solo la pérdida de agua (WL) fue función del tiempo de tratamiento, sin exhibir falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) y con un coeficiente de determinación aceptable ($R^2 > 77\%$), mientras que las otras respuestas no fueron influenciadas por las variables del proceso (Tabla 4.4).

Tabla 4.3 Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	SG (%)	WL (%)	WR (%)	Ca _w (%)
1	10	28	1,6	0,7	-0,9	-0,1
2	18	14	2,8	1,1	-1,7	-0,5
3	2	42	2,3	2,1	-0,3	-0,4
4	18	28	2,2	1,0	-1,2	-0,3
5	2	14	1,8	0,6	-1,2	-0,1
6	10	42	2,6	2,1	-0,5	-0,3
7	10	14	1,2	0,2	-1,1	-0,2
8	2	28	2,8	1,1	-1,7	-0,5
9	10	28	2,3	1,6	-0,8	-0,4
10	18	42	3,1	1,4	-1,7	-0,2
11	10	28	2,1	0,9	-1,1	-0,2

Tabla 4.4 ANOVAs de los modelos propuestos para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (Ca_w) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Fuente	Gl	Suma de cuadrados			
		SG	WL	WR	Ca _w
P: Presión de vacío	1	0,24	0,02	0,33	0,00
t: tiempo de tratamiento	1	0,81	2,28*	0,38	0,002
P ²	1	0,77	0,01	0,56	0,03
P*t	1	0,01	0,36	0,20	0,09
t ²	1	0,01	0,07	0,08	0,005
Falta ajuste	3	1,09	0,35	0,71	0,04
Error puro	2	0,26	0,45	0,05	0,05
R ² (%)		57,9	77,6	65,9	57,6

* significativo a $p \leq 0,05$; Gl: grados de libertad

En la figura 4.1 se puede observar que la WL de los gajos de mandarina impregnados con miel es mayor conforme el tiempo de tratamiento se incrementa.

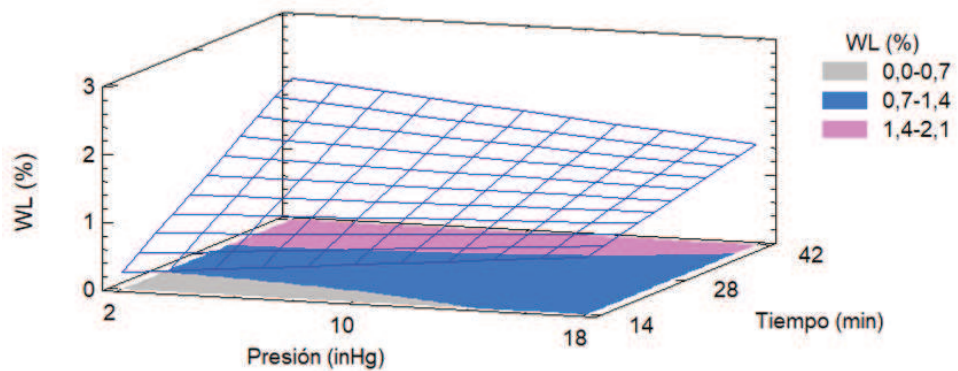


Figura 4.1 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la pérdida de agua (WL) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnada a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Por lo tanto, para WL se obtuvo el modelo completo (Ecuación 4.1) y el modelo reducido (Ecuación 4.2), eliminando los términos no significativos, ambos en variables no codificadas. En el caso de SG, WR y Ca_w , no se pudo obtener ningún modelo ya que ninguna variable fue significativa. Si se desea conocer el valor de estos parámetros en el rango experimental ensayado, la predicción más adecuada es el valor promedio de la respuesta (Tabla 4.3).

$$WL (\%) = -0,09402 + 0,04655P + 0,02196t - 0,00111P^2 - 0,00268Pt + 0,00087t^2$$

(Ecuación 4.1)

$$WL (\%) = -0,16333 + 0,07500P + 0,01655t - 0,00268Pt + 0,00097t^2$$

(Ecuación 4.2)

A partir del modelo reducido, se estimó un valor máximo para la WL del 2,2% en el tiempo de tratamiento más prolongado del ensayo (42 min), mientras que la estimación mínima fue del 0,3% pero con el mínimo tiempo de tratamiento de (14 min). Ambos a la mínima presión ensayada (2 inHg).

Los gajos de mandarina presentaron valores positivos de WL probablemente debido al predominio de los fenómenos de deshidratación en las condiciones experimentales. Mújica-Paz *et al.* (2003) demostraron que existen diferencias en el WL cuando los frutos presentan diferentes características estructurales y de porosidad. Los autores reportaron que, después del tratamiento de impregnación en solución de sacarosa (50 °Brix), a presiones equivalentes a 4-20 inHg, durante 20 min, muestras de manzanas ganaron agua (exhibieron un WL negativo), mientras que muestras de melón y mango mostraron pérdidas de agua (WL positivo) entre 6 y 8%, respectivamente. Los gajos de mandarina IV, dentro del rango ensayado, perdieron mucha menos agua (0,2-2,1%), lo que indica que la presencia de la membrana probablemente limita la pérdida de agua del producto.

En cuanto a SG y WR, que no fueron influenciados por las variables de proceso, se estimó un valor promedio de 2.3 y -1.1%, respectivamente, dentro del rango experimental ensayado. Esto significa que hay una ganancia de sólidos de la miel y un aumento de peso (WR con valores negativos) en los gajos de mandarina. Los valores de SG obtenidos son cercanos a los obtenidos por Mújica-Paz *et al.* (2003) en melón (2-3%), pero mucho más bajos que los observados en manzana (>5%), posiblemente debido a la alta porosidad de la manzana. Nuevamente, esta situación en los gajos de mandarina probablemente esté justificada por la presencia de la membrana externa y/o por un tejido con menos porosidad, que podría estar dificultando la entrada de la solución en la matriz del tejido.

Por otra parte, a_w tampoco fue función de las variables del proceso. Todos los valores observados fueron negativos (Tabla 4.3), indicando una reducción del a_w en los gajos de mandarina, luego del tratamiento de IV con SO de miel. La reducción promedio estimada, dentro del rango experimental fue de 0,3% en comparación con los gajos frescos sin tratar. Estos resultados de a_w son congruentes con los observados en otros frutos sometidos a tratamiento de IV en condiciones similares a las ensayadas en este estudio (Cháfer *et al.*, 2008; Mújica-Paz *et al.*, 2003). De acuerdo con Tapia de Daza *et al.* (1996) los valores deseables de a_w en frutas mínimamente procesadas están entre 0,97 y 0,99. Los gajos de mandarina impregnados tenían un a_w dentro de lo esperado (0,98-0,99).

4.2.3.Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los atributos fisicoquímicos

Se obtuvieron los resultados experimentales de los cambios observados en los atributos físicoquímicos de los gajos de mandarina impregnados, al día 0 y 8 del almacenamiento (Tabla 4.5). Los ANOVAs de los modelos propuestos para dichas respuestas (Tabla 4.6) indicaron que los cambios en el coeficiente de elasticidad y los sólidos solubles al día 0 (CCE_0 y SSC_0 , respectivamente), así como los cambios en la firmeza al día 8 (CF_8), fueron función de las variables del proceso, sin exhibir falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) y con coeficientes de determinación aceptables ($R^2 > 78\%$). Por lo tanto, se aceptaron los modelos. Los cambios en las demás respuestas no fueron en función de las variables del proceso, así que no fue posible obtener un modelo predictivo para estas.

4.2.3.1. *Cambios en el color*

El color es de vital importancia en las muchas dimensiones de la fruta mínimamente procesada e influye en la percepción de otras características sensoriales por parte de los consumidores, como su característica de "fresco" (Rangel-Marrón y López-Malo, 2012).

Ninguno de los cambios en parámetros de color fue influenciados por variables de proceso en el día 0 ni el día 8 del almacenamiento refrigerado (Tabla 4.6). Los valores promedios para CL^* , Ca^* , Cb^* , CC^*_{ab} , y Ch_{ab} fueron 93, 103, 116, 113 y 105% el día 0, y 92, 108, 126, 122 y 106% el día 8, respectivamente. Por tanto, como consecuencia de la IV con solución de miel (50 °Brix), se produjo una pérdida de luminosidad y un ligero aumento de la cromaticidad y tonalidad con respecto a la materia prima. Se observaron diferencias significativas entre el día 0 y 8 para b^* y C^*_{ab} , indicado un tono amarillo más intenso (datos no mostrados).

Tabla 4.5 Cambios en el color (CL*, Ca*, Cb*, CC*_{ab}, y Ch_{ab}), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	i	CL* (%)	Ca* (%)	Cb* (%)	CC* _{ab} (%)	Ch _{ab} (%)	CF (%)	CCE (%)	CSS (%)	CpH (%)
1	10	28	0	94,2	107,7	115,4	113,6	102,8	104,9	93,0	108,1	100,0
			8	91,1	109,2	131,3	125,9	106,6	111,3	92,3	110,4	97,6
2	18	14	0	90,3	105,0	120,1	116,4	105,4	109,0	79,3	119,5	94,5
			8	89,7	101,5	121,2	116,5	107,0	128,4	81,3	116,2	93,8
3	2	42	0	94,9	111,6	126,6	123,0	105,0	92,6	81,7	115,6	100,0
			8	94,6	111,2	126,6	123,0	104,9	128,3	105,4	109,0	98,3
4	18	28	0	93,1	74,4	82,4	80,4	104,2	110,8	80,8	119,4	107,2
			8	93,1	102,5	130,8	124,0	109,6	139,9	88,5	114,3	98,2
5	2	14	0	87,9	95,0	109,7	106,6	105,3	78,4	99,1	109,9	100,8
			8	91,9	118,7	127,6	125,7	102,6	172,1	140,4	116,9	100,0
6	10	42	0	92,4	113,4	125,8	122,8	104,2	98,6	99,4	117,1	100,0
			8	90,9	109,2	128,7	124,1	106,3	116,2	107,7	113,2	102,5
7	10	14	0	92,5	104,2	117,7	114,3	105,0	106,7	93,8	110,4	110,8
			8	94,5	106,9	126,5	121,7	106,7	130,7	85,2	112,8	101,8
8	2	28	0	98,6	100,3	119,9	115,2	107,1	137,4	98,9	115,5	96,9
			8	92,7	108,5	126,5	122,1	106,0	122,9	86,3	118,9	93,8
9	10	28	0	91,2	116,6	130,4	127,1	104,5	95,2	96,1	116,2	100,0
			8	92,8	109,8	127,5	123,3	105,9	123,1	110,4	115,3	98,8
10	18	42	0	86,3	108,5	121,4	118,6	104,2	81,5	103,6	123,5	99,2
			8	86,6	111,6	124,4	121,6	103,9	151,5	125,4	122,9	100,8
11	10	28	0	95,8	100,5	109,5	107,3	103,5	98,2	97,6	113,9	96,8
			8	92,8	100,4	113,9	110,6	105,0	104,5	110,7	113,8	102,6

Tabla 4.6 ANOVAs de los modelos propuestos para los cambios en el color (CL*, Ca*, Cb*, CC*ab, y Chab), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Fuente	Gl	Suma de cuadrados								
		CL*	Ca*	Cb*	CC* _{ab}	Chab	CF	CCE	CSS	CpH
i = 0 días										
P: Presión de vacío	1	22,82	60,17	173,88	144,06	2,16	8,40	42,67	76,33*	1,71
t: tiempo de tratamiento	1	1,40	143,08	115,28	122,40	0,88	76,33	26,04	44,83	7,94
P ²	1	0,34	358,43	223,72	247,51	3,46	69,13	82,16	40,75	11,06
P*t	1	30,25	42,90	60,84	50,41	0,20	434,72	434,72*	0,72	7,56
t ²	1	35,93	231,30	317,93	299,10	0,04	667,01	2,82	0,24	4,03
Falta de ajuste	3	16,82	472,96	678,13	626,63	3,94	1303,05	123,78	10,12	179,93
Error puro	2	10,91	130,09	232,21	204,66	1,46	49,33	11,00	34,85	6,83
R ² (%)		77,5	54,3	46,1	47,4	57,2	46,8	81,3	78,9	13,7
i = 8 días										
P	1	16,01	86,64	3,08	12,62	8,17	2,04	226,94	12,33	0,08
t	1	2,67	4,00	3,23	3,84	0,24	206,51	166,43	0,11	6,00
P ²	1	1,38	2,35	1,23	1,81	0,01	1024,83*	1,21	28,21	36,63
P*t	1	8,41	77,44	4,41	15,21	7,29	1118,90*	1564,2	53,29	18,92
t ²	1	2,22	31,27	0,32	1,22	4,74	374,79	240,44	0,18	13,96
Falta de ajuste	3	18,43	10,74	56,60	29,53	10,65	259,70	984,14	42,17	14,33
Error puro	2	1,93	55,39	167,39	134,05	1,29	177,15	222,09	12,61	13,63
R ² (%)		61,1	76,0	5,1	17,9	63,7	88,0	64,9	63,4	70,4

* significativo a $p \leq 0,05$; Gl: grados de libertad

Los resultados obtenidos respecto al color de los gajos de mandarina son consistentes con los reportados por Cháfer *et al.* (2008), para rodajas de naranja impregnadas con una solución de sacarosa (45 °Brix). Estas muestras tenían menor luminosidad (5 a 20%) y valores de croma (6 a 22%), que su contramuestra sin tratar, pero valores similares en el ángulo de tono (sólo 1% menor). Esto, inmediatamente después de la deshidratación osmótica con pulsos de vacío (3 inHg durante 10 min, con posterior tiempo de relajación de 25 min). Adicionalmente, tampoco se reportaron cambios después del almacenamiento refrigerado.

Por otro lado, Jeon y Zhao (2005) también reportaron una reducción inicial de los valores L^* y ligeros cambios después de 8 días de almacenamiento refrigerado, en rodajas de manzanas sometidas a IV con mieles silvestres. Según nuestros resultados, los gajos de mandarina no mostraron cambios de color significativos debido a la impregnación con miel.

4.2.3.2. *Cambios en textura*

En la fruta mínimamente procesada, la textura es uno de los principales criterios de calidad para la aceptabilidad del consumidor (Francis *et al.*, 2012).

Al día 0, el modelo CF_0 no fue afectado significativamente por las variables de proceso (Tabla 4.6). El valor promedio, dentro del rango experimental (Tabla 4.5), fue 100,4%. Es decir, la firmeza en las muestras IV en el día 0 fue similar a la de la fruta fresca sin tratar.

Por otra parte, CCE_0 si fue afectado por las variables del proceso, el coeficiente de elasticidad disminuyó a presión mínima conforme se incrementó el tiempo de tratamiento. Por el contrario, a presión media y máxima, el coeficiente de elasticidad fue mayor al aumentar el tiempo (Figura 4.2). De esta forma, los valores más bajos para esta respuesta se obtuvieron a presión máxima durante el tiempo mínimo y medio de tratamiento, donde se observaron reducciones alrededor del 20%, respecto a los gajos frescos sin impregnar.

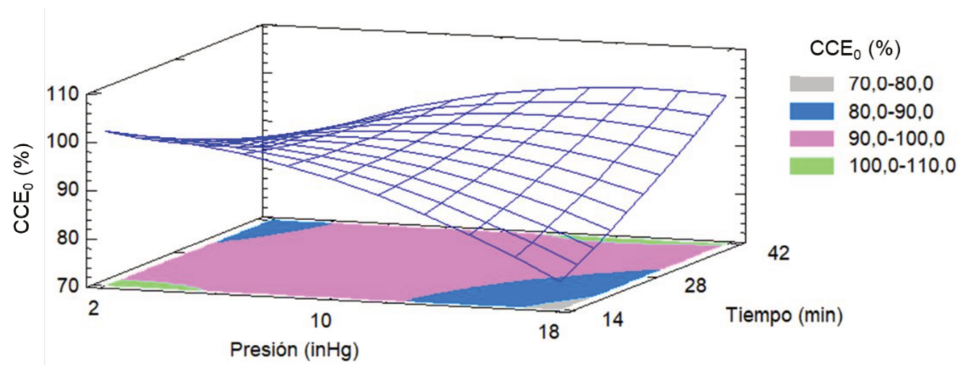


Figura 4.2 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el coeficiente de elasticidad al día 0 (CCE_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvo el modelo completo y el reducido para CCE_0 , representados en las ecuaciones 4.3 y 4.4, respectivamente.

$$CCE_0(\%) = 116,110 - 1,15998P - 1,08350t - 0,08898P^2 + 0,09308Pt + 0,00538t^2$$

(Ecuación 4.3)

$$CCE_0(\%) = 112,751 - 1,24792P - 0,78199t - 0,08458P^2 + 0,09308Pt$$

(Ecuación 4.4)

A partir de la ecuación 4.4, se estimó que se puede obtener un valor de CCE_0 , cercano a la muestra fresca sin tratar (100%), usando una presión de vacío alrededor de 12 inHg durante un tiempo de tratamiento igual a 42 min.

Luego del almacenamiento (día 8), CCE_8 no fue función de las variables de proceso así que se determinó el valor promedio dentro del rango de presión y tiempo ensayados (Tabla 4.5) de 103%. Aparentemente, el coeficiente de elasticidad de los gajos de mandarina impregnados y almacenados era muy cercano al observado en los gajos frescos sin impregnar.

Por el contrario, CF_8 fue función de la presión en su término cuadrático y del efecto combinado entre presión de vacío y tiempo (Tabla 4.6). Los gajos de mandarina IV almacenados eran más firmes que los gajos frescos sin impregnar (Figura 4.3). A presión mínima, CF_8 fue menor conforme incrementaba el tiempo de tratamiento, pero a presión alta el efecto fue contrario.

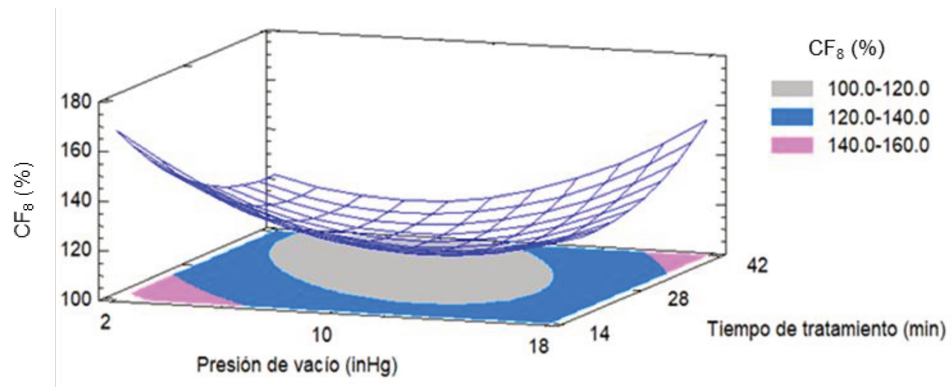


Figura 4.3 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la firmeza al día 8 (CF_8) en función de la presión y tiempo de tratamiento de en gajos de mandarina impregnados al vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Los modelos completo y reducido obtenidos para CF_8 se representan en las ecuaciones 4.5 y 4.6, respectivamente.

$$CF_8 (\%) = 246,649 - 10,5395P - 5,38754t + 0,31427P^2 + 0,14933Pt + 0,06206t^2$$

(Ecuación 4.5)

$$CF_8 (\%) = 195,467 - 11,4802P - 1,4933t + 0,36495P^2 + 0,14933Pt$$

(Ecuación 4.6)

A partir de la ecuación 4.6 se estimó un cambio mínimo de 109% al usar una presión de vacío cercana a 7 inHg y un tiempo de tratamiento de 42 min.

Según Zhao y Xie (2004), el tratamiento con una solución hipertónica tal como la que se usó en este estudio, podría reducir la firmeza original del tejido vegetal debido a la presión que ejerce el fluido sobre la membrana celular, cambios en la fracción de volumen aire/líquido, pérdida de turgencia, entre otros.

Este efecto se confirmó en segmentos de manzana IV con soluciones hipertónicas de miel (RöBle *et al.*, 2011), pero no en el presente trabajo con gajos de mandarina, donde la firmeza se mantuvo similar al fruto fresco, después del tratamiento de IV. En el caso de las manzanas, se trata de una matriz porosa con una mayor superficie de tejido expuesta a la impregnación, a diferencia de los gajos de mandarina donde el tejido es menos poroso y menos expuesto debido a la membrana externa.

El posterior aumento de firmeza está relacionado con el efecto de la deshidratación externa durante el almacenamiento, lo que aumentó la resistencia de la membrana a la rotura.

4.2.3.3. Cambios en sólidos solubles y pH

Por lo general, la buena calidad de los cítricos es juzgada por los consumidores en gran medida por el sabor, sobre todo el equilibrio entre dulzor y acidez (Goldenberg *et al.*, 2015).

Los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) en los gajos de mandarina IV ocurrieron en función de la presión en su término lineal (Tabla 4.6). El contenido de sólidos solubles de los gajos IV fue superior al de los gajos frescos sin tratar, en todas las condiciones del proceso y este valor incrementó conforme la presión de vacío usada fue mayor (Figura 4.4).

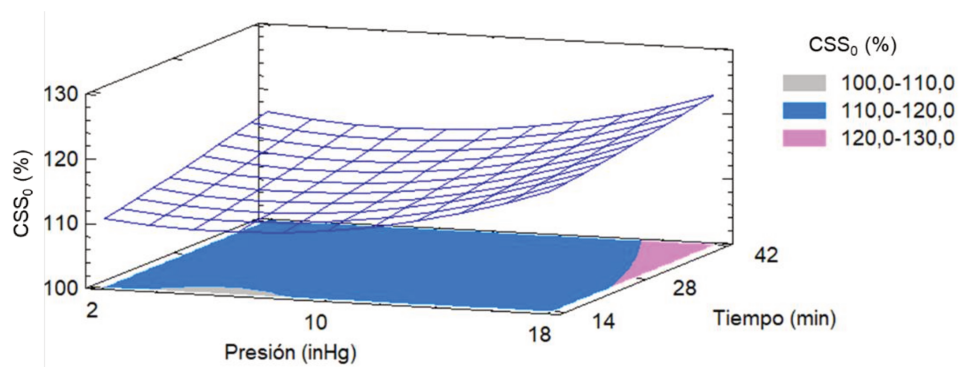


Figura 4.4 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) en función de la presión y tiempo de tratamiento de gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvieron los modelos, completo (Ecuación 4.7) y reducido (Ecuación 4.8) para representar a CSS_0 .

$$CSS_0(\%) = 109,534 - 0,70854P + 0,14290t + 0,06281P^2 - 0,00368Pt + 0,00156t^2$$

(Ecuación 4.7)

$$CSS_0(\%) = 109,695 - 0,83708P + 0,19321t + 0,06408P^2$$

(Ecuación 4.8)

Mediante el modelo reducido, se estimó que un incremento máximo de 24%, en el contenido de sólidos solubles de los gajos IV, podría obtenerse al usar la máxima presión de vacío (18 inHg) durante el tiempo más prolongado de tratamiento (42 min).

Los cambios en sólidos solubles al día 8 (SSC₈) no fueron influidos por las variables del proceso. Se determinó que el contenido promedio de SS en los gajos impregnados y almacenados fue 15% superior al de los gajos frescos sin impregnar. Este resultado está bien justificado por el uso de una solución hipertónica, con una concentración 5 veces superior a los SS de fruta fresca y por la operación de IV que promueve la transferencia de los sólidos presentes en la solución. Además, es congruente con lo observado en otros estudios de impregnación de frutos frescos cortados (Cháfer *et al.*, 2008; Paes *et al.*, 2007; RöBle *et al.*, 2011).

Por su parte, los cambios en el pH en el día 0 (CpH₀) y en el día 8 (CpH₈) no fueron afectados por las variables del proceso y el valor promedio estimado fue de 101 y 99%, respectivamente. Para cuestiones prácticas, el pH de los gajos de mandarina no se modificó por efecto del tratamiento de IV ni por el almacenamiento refrigerado.

4.2.4.Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los cambios en el potencial saludable

Se analizaron los valores experimentales correspondientes a los cambios en el potencial saludable de los gajos de mandarina impregnados, al día del tratamiento y luego del almacenamiento refrigerado (Tabla 4.7). Los ANOVAs de los modelos propuestos para estas respuestas (Tabla 4.8) indicaron que únicamente los cambios en el contenido de vitamina C al día 0 (CVitC₀) fueron afectados por las variables del diseño, sin exhibir falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) y con coeficientes de determinación aceptables ($R^2 > 77\%$). Por lo tanto, se obtuvieron modelos predictivos únicamente para esta respuesta.

Tabla 4.7 Cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CvitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo i (0 y 8 d) del almacenamiento

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	i	CFT (%)	CAA (%)	CvitC (%)	CCA (%)	CNar (%)	CHesp (%)
1	10	28	0	100,6	91,0	104,0	99,9	106,1	100,1
			8	100,1	78,2	94,6	60,6	110,3	113,4
2	18	14	0	103,8	87,3	86,4	97,7	92,0	89,1
			8	108,8	80,3	79,4	62,4	104,0	101,7
3	2	42	0	76,1	101,9	109,6	100,1	93,3	100,1
			8	96,8	72,3	90,7	58,9	98,0	105,7
4	18	28	0	85,0	95,5	94,3	102,2	86,3	85,4
			8	102,9	89,0	92,7	65,1	89,7	96,1
5	2	14	0	98,1	94,5	97,8	97,8	104,1	85,9
			8	101,5	81,2	90,8	63,9	105,6	91,5
6	10	42	0	81,2	98,9	113,0	100,9	91,8	91,4
			8	102,6	73,6	92,8	60,6	87,5	99,5
7	10	14	0	88,5	92,8	96,2	101,8	95,2	92,0
			8	136,2	75,2	84,2	65,3	104,5	97,7
8	2	28	0	87,8	96,7	89,4	100,9	101,3	96,6
			8	117,2	77,3	81,0	62,4	111,4	102,8
9	10	28	0	92,3	94,7	101,5	100,4	108,0	99,4
			8	87,4	75,1	92,7	58,7	106,4	101,1
10	18	42	0	110,8	90,1	93,0	100,0	92,9	95,5
			8	97,3	74,1	83,7	59,8	104,6	107,4
11	10	28	0	108,9	92,4	101,0	99,3	103,5	95,4
			8	112,9	81,3	96,5	62,6	102,8	95,0

Tabla 4.8 ANOVAs de los modelos propuestos para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CvitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en gajos de mandarina impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo i (0 y 8 d) del almacenamiento

Fuente	Gl	Suma de cuadrados					
		CFT	CAA	CvitC	CCA	CNar	CHesp
i = 0 d							
P: Presión de vacío	1	235,63	68,01	88,94	0,20	126,04	24,0
t: tiempo de tratamiento	1	82,88	44,28	206,51*	2,28	29,48	64,68
P ²	1	0,13	0,31	207,25*	0,61	54,16	21,93
P*t	1	210,25	5,29	6,76	0,00	34,22	14,06
t ²	1	7,99	0,02	34,78	1,21	61,41	12,17
Falta de ajuste	3	621,55	44,54	142,01	14,86	152,63	115,24
Error puro	2	137,78	6,98	5,17	0,61	10,21	12,29
R ² (%)		41,5	69,6	77,7	24,2	68,1	53,9
i = 8 d							
P	1	7,04	26,46	7,48	0,74	46,48	4,17
t	1	413,34	46,48	27,31	25,22	96,0	73,5
P ²	1	61,68	34,68	61,02	0,86	2,02	0,08
P*t	1	11,56	1,82	4,84	1,44	16,81	17,64
t ²	1	49,40	64,61	26,89	0,12	33,90	2,95
Falta de ajuste	3	830,01	57,55	178,10	17,92	362,7	98,22
Error puro	2	325,13	19,22	7,22	7,61	28,14	171,62
R ² (%)		31,0	66,8	45,9	52,5	33,1	26,8

* significativo a $p \leq 0,05$; Gl: grados de libertad

4.2.4.1. *Cambios en el contenido de fenoles totales*

Debido a que los cambios en el contenido de fenoles totales no fueron influidos por las variables del proceso el día 0 (CFT₀) ni el día 8 (CFT₈) (Tabla 4.8), se estimó un valor promedio que fue de 94 y 106%, respectivamente. Es decir, el contenido fenólico de los gajos disminuyó un 6% después del tratamiento de IV, en comparación con los gajos sin tratar y hubo un ligero aumento después del almacenamiento.

De acuerdo con lo mencionado en anteriores investigaciones en frutos frescos cortados (Salinas-Hernández *et al.*, 2007; Francis *et al.*, 2012; Jideani *et al.*, 2017; Pirovani *et al.*, 2015), es común que ocurra una reducción inicial en los compuestos fitoquímicos por efecto de las operaciones del mínimo procesamiento. Así mismo, que estos compuestos se incrementen durante el almacenamiento, como respuesta al estrés fisiológico.

4.2.4.2. *Cambios en el contenido de ácido ascórbico y vitamina C*

El día del tratamiento, los cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA₀) de los gajos impregnados no fueron afectados por las variables del proceso (Tabla 4.8). Se estimó una reducción promedio del 6%.

En cuanto a los cambios en vitamina C (CVitC₀), fueron afectados por el tiempo en su término lineal y por la presión en su término cuadrático (Tabla 4.8). El contenido de vitamina C de los gajos IV disminuyó a menor tiempo de tratamiento, respecto a los gajos frescos sin impregnar, mientras que los valores fueron superiores a mayor tiempo de tratamiento y a presión media de vacío (Figura 4.5).

Los modelos obtenidos para esta respuesta se representan en las ecuaciones 4.9 (completo) y 4.10 (reducido). A partir de la ecuación 4.10, se estimó que es posible obtener un incremento de vitamina C de hasta 9% al aplicar una presión de vacío de 8 inHg y un tiempo de tratamiento de 42 min.

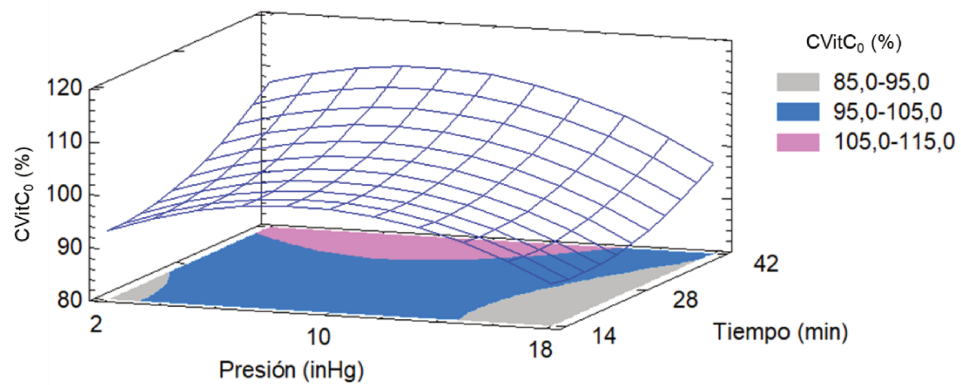


Figura 4.5 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la vitamina C al día 0 (CvitC₀) en función de la presión y tiempo de tratamiento de gajos impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

$$CVitC_0(\%)=92,1757+2,67023P-0,52353t-0,14132P^2-0,01161Pt+0,01890t^2$$

(Ecuación 4.9)

$$CVitC_0(\%) = 83,63060 + 2,03646P + 0,41905t - 0,12589P^2$$

(Ecuación 4.10)

Luego del almacenamiento, los cambios en ácido ascórbico y vitamina C (CAA₈ y VitCC₈, respectivamente) no se afectaron por las variables del proceso. El valor promedio de las 11 experiencias, fue de 78 y 89% para CAA₈ y CvitC₈, respectivamente. Es decir que, después del almacenamiento, ocurrió una reducción en AA y VitC del 22 y 11%, respectivamente, en comparación con la muestra fresca sin tratar. Estos resultados concuerdan con Plaza *et al.* (2011), quienes reportaron reducciones del AA y VitC en naranjas de hasta 24 y 25%, respectivamente, después del almacenamiento a 4 °C durante 12 días. El ácido ascórbico es usualmente degradado por procesos oxidativos que se estimulan en presencia de luz, oxígeno, calor, peróxidos y enzimas como ascorbato oxidasa y peroxidasa (Plaza *et al.*, 2006).

4.2.4.3. *Cambios en la capacidad antioxidante*

Los cambios en la capacidad antioxidante, el día del tratamiento (CCA₀) y luego del almacenamiento (CCA₈), no fueron afectados por las variables del proceso (Tabla 4.8). El valor promedio experimental estimado fue de 101 y 62%, respectivamente (Tabla 4.7). Es decir, la capacidad antioxidante original de los gajos de mandarinas se mantuvo inmediatamente después del tratamiento de IV con la solución de miel. Sin embargo, después del almacenamiento se determinó una reducción del 38%. Este resultado se justifica por la importante pérdida de AA (22%) que tuvieron los gajos de mandarina IV luego del almacenamiento, considerando que este es el compuesto que mayor aporte tiene en la capacidad antioxidante de los frutos cítricos (Gardner *et al.*, 2000; Del Caro *et al.*, 2004; Shen *et al.*, 2013; Van de Velde *et al.*, 2013).

4.2.4.4. *Cambios en el contenido de flavanonas*

Los cambios en el contenido de narirutina y hesperidina, en el día del tratamiento (CNar₀, y CHesp₀, respectivamente) y luego del almacenamiento (CNar₈, y CHesp₈, respectivamente), no fueron afectados por la presión de vacío ni el tiempo de tratamiento. Por lo tanto, se estimó el valor promedio de cambio de las 11 corridas (Tabla 4.7) para estas respuestas al día 0 (CNar₀ = 98% y CHesp₀ = 94%) y 8 (CNar₈ = 102% y CHesp₈ = 101%) del almacenamiento. De acuerdo con estos valores, ambas flavanonas presentaron una leve reducción (Nar = 2% y Hesp = 6%) por efecto del tratamiento de IV con miel y un aparente incremento después del almacenamiento, exhibiendo valores similares al de la muestra fresca sin tratar (incluso ligeramente superior).

Los cambios determinados en el contenido de flavanonas se corresponden con los determinados para el contenido total de compuestos fenólicos (reportado en el ítem 4.2.3.1) y están justificados por la literatura referente al procesamiento de frutos frescos cortados, donde se indica que las operaciones del mínimo procesamiento pueden provocar, en los mismos, una reducción del contenido inicial de fitoquímicos y que este contenido puede incrementarse luego del almacenamiento debido al estrés fisiológico, inducido por el procesamiento y condiciones de almacenamiento, entre otros factores (Salinas-Hernández *et al.*, 2007; Francis *et al.*, 2012; Jideani *et al.*, 2017; Pirovani *et al.*, 2015).

4.2.5. Optimización de respuestas múltiples y validación de los modelos predictivos

Los criterios propuestos para el planteamiento de un escenario de optimización del proceso de IV suave con solución de miel (50 °Brix) aplicado a gajos de mandarina, a través de la función de deseabilidad de Derringer, se muestran en la tabla 4.9. Las condiciones óptimas obtenidas, mediante dicha función de deseabilidad (D), son una presión de vacío de 16 inHg y tiempo de tratamiento igual a 24 min, alcanzando un valor de deseabilidad global (D) de 0,63.

Tabla 4.9 Criterios utilizados para optimizar el tratamiento de impregnación a vacío suave con solución de miel (50 °Brix) en gajos de mandarina usando la función de Derringer

Respuesta	Mínimo observado (%)	Máximo observado (%)	Criterios	
			Objetivo	Impacto
WL	0,2	2,1	Minimizar	5
CSS ₀	108,1	123,5	Maximizar	5
CvitC ₀	86,4	113,0	Maximizar	1
CF ₈	104,5	172,1	Minimizar	4

WL: pérdida de agua; CSS₀: cambios en sólidos solubles al día 0; CvitC₀: cambios en vitamina C al día 0; CF₈: cambios en firmeza al día 8.

Los resultados experimentales obtenidos para WL, CvitC₀ y CF₈, en el ensayo de validación (bajo las condiciones de P y t optimizadas), concuerdan con los valores predichos ($p > 0,05$) por los modelos correspondientes (Tabla 4.10). Por lo tanto, se asume que los modelos desarrollados fueron adecuados para la descripción de estos datos.

Por otra parte, el valor experimental de CSS₀ estuvo apenas por encima de la predicción. Según los sólidos solubles de la mandarina fresca (12,4 °Brix), los valores experimentales de las pruebas de validación deberían estar entre 14 y 15 °Brix. Sin embargo, el contenido de sólidos solubles resultó en 15,7 °Brix (0,7 °Brix más alto que la predicción), lo que para propósitos prácticos significa un ajuste razonable, más allá de la diferencia estadística.

Tabla 4.10 Valores predichos y experimentales para la pérdida de agua (WL), cambios en sólidos solubles y vitamina C al día 0 (CSS₀ y CvitC₀, respectivamente) y cambios en firmeza al día 8 (CF₈), en gajos de mandarina impregnados bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)

Respuesta	Predicho (%)	Inferior*	Superior*	Experimental
WL	0,9 ^a	0,4	1,5	1,1 ^a
CSS ₀	117,2 ^a	113,0	121,4	126,9 ^b
CvitC ₀	92,7 ^a	85,2	100,3	97,6 ^a
CF ₈	121,0 ^a	109,0	135,0	109,9 ^a

* intervalos de confianza del 95%. Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa, de acuerdo con los intervalos de confianza.

Adicionalmente, las demás respuestas que fueron analizadas en las muestras del diseño experimental y no se afectaron por las variables del proceso, se analizaron también en las muestras del ensayo de validación. Se observó que el cambio promedio de estas respuestas en los gajos de mandarina impregnados, bajos las condiciones optimizadas del proceso (Tabla 4.11), estaban dentro del rango experimental ensayado (Tablas 4.3, 4.5 y 4.7). Con excepción de los sólidos solubles al día 8, que estaban ligeramente por encima, lo cual se corresponde con lo observado en los cambios al día 0.

Tabla 4.11 Parámetros de transferencia y cambios en parámetros de calidad de gajos de mandarina impregnados a vacío, bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)

Respuesta (%)	Tiempo de almacenamiento	
	0 días	8 días
SG	2,7	nd
WR	-1,7	nd
Ca _w	-0,4	nd
CL*	92,2	93,6
Ca*	104,9	100,6
Cb*	112,8	115,8
CC* _{ab}	111,8	112,5
Ch _{ab}	103,1	105,7
CF	100,7	fv
CCE	fv	95,7
CSS	fv	124,6
CpH	97,4	101,2
CFT	106,0	124,8
CAA	96,7	85,8
CVitC	fv	89,2
CCA	97,9	93,6
CNar	102,7	106,1
CHesp	100,7	109,0

SG, Ganancia de sólidos; WR, reducción de peso; Ca_w, cambios en actividad de agua; CL*, Ca*, Cb*, CC*_{ab}, y Ch_{ab}, cambios en parámetros de color; CF, cambios en firmeza; CCE, cambios en coeficiente de elasticidad; CSS, cambios en sólidos solubles; CpH, cambios en pH; CFT, cambios en fenoles totales; CAA, cambios en ácido ascórbico; CVitC, cambios en vitamina C; CCA, cambios en capacidad antioxidante; CNar cambios en narirutina; CHesp, cambios en hesperidina; nd, no determinado; fv, función de las variables del proceso

4.2.6. Análisis microbiológico

Considerando que las frutas frescas cortadas se consumen crudas, es de suma importancia asegurar la calidad microbiológica de estos productos para minimizar el riesgo de los consumidores.

El recuento microbiológico, en los gajos de mandarina frescas, fue de 1,9 Log UFC g⁻¹ para aerobios mesófilos totales (ATM), 1,7 Log UFC g⁻¹ para mohos y levaduras (MyL) y 1,9 Log UFC g⁻¹ para psicrótrofos totales (Psic). Después de la IV con miel (bajo las condiciones óptimas), ATM y MyL se mantuvieron estables mientras que Psic se redujo a 1,5 Log UFC g⁻¹. Después del almacenamiento, ATM y Psic se incrementaron a 3,0 Log UFC g⁻¹, mientras que MyL disminuyeron a 1,5 Log UFC g⁻¹.

Los recuentos obtenidos en este trabajo son congruentes con lo reportado por Tournas *et al.* (2006) para MyL (<2,0 y 9,7 Log UFC g⁻¹) y Abadía *et al.* (2008) para AMT (<10⁵ UFC g⁻¹) en frutas frescas cortadas y comercializadas en supermercados. En cuanto a Psic, el recuento obtenido fue menor a los reportado por Agostini *et al.* (2013) en segmentos de naranja almacenados a 5,0 ± 1,0 °C por 8 días (hasta 10⁵ UFC g⁻¹). El menor recuento obtenido en los gajos de mandarina puede estar relacionado al uso de menor temperatura de almacenamiento.

Todos los recuentos, tanto en el día del procesamiento como después del almacenamiento, fueron satisfactorios dentro del criterio microbiológico para los productos frescos cortados (< 6 Log UFC g⁻¹) (Pirovani *et al.*, 2006).

4.2.7. Análisis sensorial

El análisis de los datos experimentales obtenidos del ensayo ADC de los gajos de mandarina (Tabla 4.12) indicó que no había una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre el color típico, textura y jugosidad de los gajos de mandarina impregnada (MIV) y los gajos de mandarina fresca sin impregnar (MFS) en el día 0 ni en el día 8. En el día 0, la acidez fue similar, mientras que el olor y sabor típico disminuyeron. Sin embargo, MIV tenía mayor dulzor y brillo, con olor y sabor a miel.

Después del almacenamiento, tanto el olor típico como el olor a miel eran casi imperceptibles. Los gajos impregnados y almacenados eran más brillantes, con mayor acidez y menor sabor a miel, pero el dulzor y sabor típico se mantuvieron similares al día 0 de la IV. Adicionalmente, no se generaron olores ni sabores extraños en MIV hasta el día 8 (puntuaciones por debajo del término ancla “ligeramente perceptible” = 1.0).

Tabla 4.12 Perfil sensorial de gajos de mandarina frescos sin impregnar e impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 24 min)

Descriptor	Gajos de mandarina frescos sin impregnar	Gajos de mandarina impregnados	
		Día 0	Día 8
Olor típico	3,5 ± 1,6 ^a	1,3 ± 0,3 ^b	1,1 ± 0,2 ^b
Olor miel	0,2 ± 0,3 ^a	6,5 ± 1,9 ^b	1,1 ± 0,1 ^a
Olor extraño	0,3 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,4 ^a	0,3 ± 0,2 ^a
Color típico	6,4 ± 1,2 ^a	6,4 ± 1,3 ^a	6,8 ± 1,6 ^a
Brillo	3,0 ± 1,7 ^a	6,6 ± 1,1 ^b	8,0 ± 0,9 ^b
Textura	5,0 ± 2,1 ^a	4,3 ± 1,7 ^a	4,4 ± 1,2 ^a
Jugosidad	7,5 ± 1,3 ^a	8,0 ± 0,9 ^a	7,1 ± 0,9 ^a
Dulzor	3,4 ± 1,2 ^a	4,8 ± 0,9 ^b	4,5 ± 0,7 ^b
Acidez	2,4 ± 1,1 ^a	2,1 ± 0,8 ^a	3,8 ± 0,7 ^b
Sabor típico	6,1 ± 1,1 ^a	3,9 ± 1,1 ^b	4,5 ± 0,5 ^b
Sabor miel	0,2 ± 0,2 ^a	4,8 ± 1,2 ^b	2,7 ± 0,8 ^c
Sabor extraño	0,2 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,6 ^a

Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con Tukey HSD, promedio \pm desviación estándar

4.3. Tratamiento de IV suave de octavos de naranja con SO de miel

4.3.1. Caracterización de los octavos de naranja

En la Tabla 4.13 se presentan las características iniciales de las naranjas usadas para el desarrollo de las 11 corridas del diseño experimental, así como las del ensayo de validación, Los octavos de naranja usados en el diseño experimental tenían un valor de a^* mayor y h_{ab} menor que los octavos empleados en la validación. Además, tenían mayor resistencia a la ruptura del tejido (coeficiente de elasticidad más alto), eran menos dulces y ligeramente más ácidas, con mayor contenido de fenoles totales, pero menor de ácido ascórbico y vitamina C, lo que llevó a una capacidad antioxidante también más baja.

Tabla 4.13 Características iniciales de octavos de naranja frescos usados en el diseño experimental de impregnación a vacío (2019) y el ensayo de validación (2020)

Respuesta	2019	2020
L^*	$41,4 \pm 2,7^a$	$41,8 \pm 1,5^a$
a^*	$5,8 \pm 1,2^a$	$4,5 \pm 0,9^b$
b^*	$26,8 \pm 4,5^a$	$27,6 \pm 2,1^a$
C^*_{ab}	$27,4 \pm 4,5^a$	$28,0 \pm 2,1^a$
h_{ab}	$77,6 \pm 2,3^a$	$80,5 \pm 1,3^b$
Firmeza (N)	$5,8 \pm 1,4^a$	$5,5 \pm 0,7^a$
Coeficiente elasticidad (N/s)	$1,6 \pm 0,5^a$	$1,2 \pm 0,1^b$
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix)	$11,8 \pm 0,3^a$	$13,8 \pm 0,3^b$
pH	$3,6 \pm 0,1^a$	$3,7 \pm 0,1^b$
a_w	$0,985 \pm 0,002^a$	$0,983 \pm 0,003^a$
Fenoles totales (mgAG Kg ⁻¹ FF)	$651,0 \pm 33,9^a$	$429,5 \pm 9,1^b$
Ácido ascórbico (mgAA Kg ⁻¹ FF)	$370,8 \pm 10,9^a$	$521,1 \pm 4,4^b$
Vitamina C (mg AAT Kg ⁻¹ FF)	$425,8 \pm 11,5^a$	$600,8 \pm 6,5^b$
Capacidad antioxidante (mgAA Kg ⁻¹ FF)	$694,4 \pm 15,1^a$	$822,6 \pm 4,0^b$
Narirutina (mg Kg ⁻¹ FF)	$238,4 \pm 6,0^a$	$273,4 \pm 26,7^a$
Hesperidina (mg Kg ⁻¹ FF)	$854,0 \pm 52,6^a$	$1069,1 \pm 40,4^b$

L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} y h_{ab} = parámetros del sistema CIELAB; Letras distintas en la misma fila, indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con Tukey HSD.

Este tipo de diferencias, como se mencionó antes, son comunes en frutas y hortalizas y dependientes de diversos factores, tanto externos como propios del fruto (Pirovani *et al.*, 2015).

4.3.2.Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los parámetros de transferencia de masa y la actividad de agua

Se determinaron los valores experimentales de los parámetros de transferencia de masa (SG, WL, WR) y los cambios en a_w (Ca_w) de los octavos de naranja, después del tratamiento de impregnación (Tabla 4.14). Los ANOVAs de los modelos propuestos, para estas respuestas, indicaron que SG, WL, WR fueron función de las variables del proceso, sin exhibir falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) y con coeficientes de determinación aceptables ($R^2 > 70\%$), mientras que Ca_w no fue función de las variables del proceso (Tabla 4.15).

Tabla 4.14. Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (Ca_w) de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	SG (%)	WL (%)	WR (%)	Ca_w (%)
1	10	28	5,2	8,0	2,7	-0,9
2	2	28	3,7	7,5	3,7	-0,9
3	2	14	2,9	6,3	3,4	-0,2
4	2	42	4,1	8,3	4,2	-0,3
5	18	28	4,8	7,1	2,3	-0,6
6	18	42	5,0	7,6	2,6	-0,6
7	10	14	3,8	6,1	2,3	-0,6
8	18	14	3,1	6,0	3,0	-0,4
9	10	28	3,8	7,0	3,1	-0,6
10	10	42	4,5	7,4	2,8	-0,2
11	10	28	3,9	6,5	2,6	-0,4

Tabla 4.15 ANOVAs de los modelos propuestos para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y cambios en a_w (Ca_w) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Fuente	Gl	Suma de cuadrados			
		SG	WL	WR	Ca_w
P	1	0,8	0,3	1,9**	0,01
t	1	2,4*	4,0*	0,1	0,002
P ²	1	0,1	0,1	0,6*	0,004
P*t	1	0,1	0,04	0,4	0,003
t ²	1	0,3	0,3	0,004	0,2
Falta ajuste	3	0,4	0,1	0,3	0,2
Error puro	2	1,2	1,2	0,1	0,1
R ² (%)		70,3	78,7	88,2	42,8

* significativo a $p \leq 0,05$; ** significativo a $p \leq 0,01$; Gl: grados de libertad

La SG y WL fueron afectadas por el tiempo de tratamiento y en las figuras 4.6 y 4.7 (para SG y WL, respectivamente), se puede observar que la ganancia de sólidos y la pérdida de agua incrementan conforme el tiempo de tratamiento es mayor.

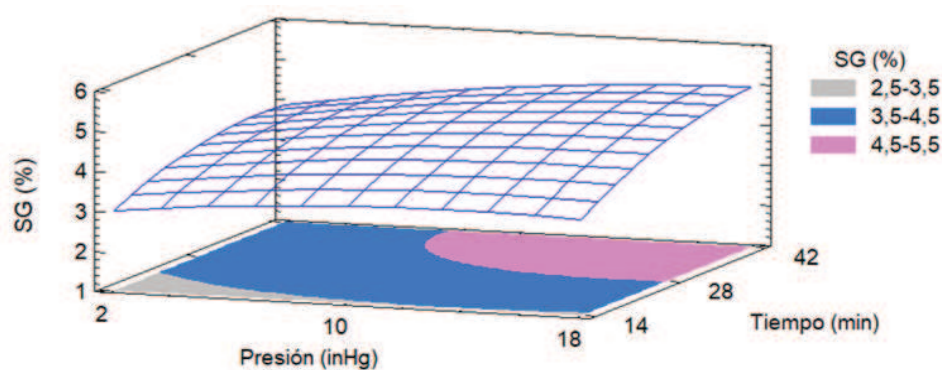


Figura 4.6 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la ganancia de sólidos (SG) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

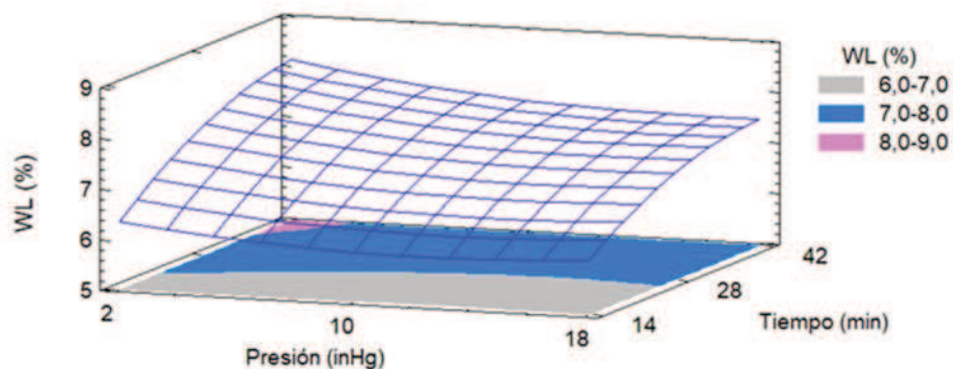


Figura 4.7 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la pérdida de agua (WL) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvieron los modelos completo y reducido para SG (ecuaciones 4.11 y 4.12, respectivamente) y WL (ecuaciones 4.13 y 4.14, respectivamente). A partir de sus correspondientes modelos reducidos, se estimó una máxima ganancia de sólidos (procedentes de la miel) de 4,9% si los octavos son tratados con 18 inHg por 40 min y una mínima pérdida de agua de 6,3% al tratar los octavos con 2 inHg, durante 14 min.

$$SG (\%) = 1.45132 + 0.07116P + 0.12134t - 0.00345P^2 + 0.00156Pt - 0.00164t^2$$

(Ecuación 4.11)

$$SG (\%) = 1,035 + 0,04583P + 0,15381t - 0,00194t^2$$

(Ecuación 4.12)

$$WL (\%) = 4,56952 - 0,07325P + 0,16125t + 0,00345P^2 - 0,00089Pt - 0,00168t^2$$

(Ecuación 4.13)

$$WL (\%) = 5,43939 + 0,05833t$$

(Ecuación 4.14)

Por su parte, WR fue afectado por la presión en su término lineal y cuadrático (Tabla 4.15). Se obtuvo una reducción de peso de entre 2 y 3% al usar las presiones media y máxima, mientras que fue superior al usar la presión mínima (Figura 4.8).

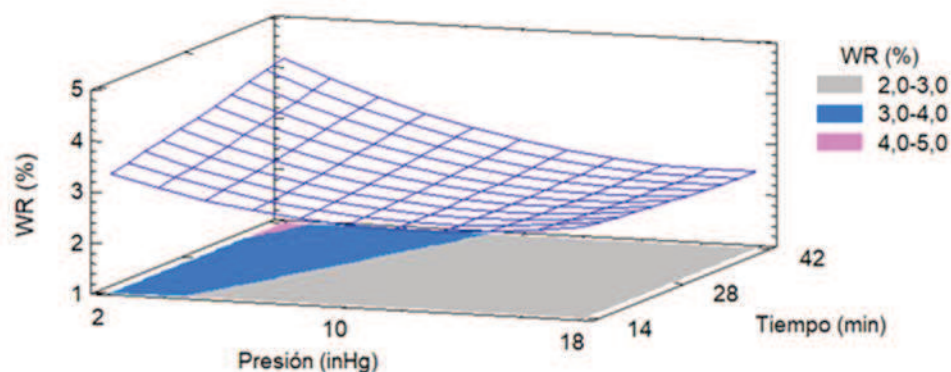


Figura 4.8 Gráfico de superficie y áreas de contorno para la reducción de peso (WR) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvo el modelo completo para WR (Ecuación 4.15) y a partir de este el modelo reducido (Ecuación 4.16).

$$WR (\%)=3,26524-0,14879P+0,02622t+0,00765P^2-0,00268Pt+0,00020t^2$$

(Ecuación 4.15)

$$WR (\%)=4,18958-0,22708P+0,00781P^2$$

(Ecuación 4.16)

Mediante el modelo reducido, se estimó una mínima reducción de peso de 2,5% al aplicar en los octavos de naranja una presión de 14 inHg en un tiempo total de tratamiento igual a 30 min.

Los valores máximos obtenidos para la SG en octavos de naranja impregnados con miel fueron superiores a los reportados por Mújica-Paz *et al.* (2003) en mango (1-2%) y melón (2-3%), pero cercanos a lo reportado en manzana (> 5%), luego del tratamiento impregnación de estos frutos con solución de sacarosa (50 °Brix) en condiciones de presión de vacío y tiempo de tratamiento dentro del rango ensayado en este trabajo. Por otra parte, la WL de los octavos de naranja fue cercana a la de mango (8%) y superior a la de melón (6%) y aún más a la de manzana (donde se obtuvieron valores negativos de WL, indicando ganancia de agua), según lo reportando por estos mismos autores.

De acuerdo con Ashitha y Prince (2018) uno de los parámetros de mayor importancia para el tratamiento de impregnación por vacío, es la fracción porosa de la matriz, porque representa el espacio potencialmente disponible para el ingreso de la solución de impregnación. También influye la distribución, tamaño y forma de los capilares (Zhao y Xie, 2004). Los valores de SG y WL obtenidos en naranja, indican una menor porosidad en comparación con una manzana o melón, por lo que ocurre una importante migración del líquido interno hacia la solución externa de impregnación, pero una estructura menos fibrosa y compacta que el mango o melón, lo que permite un mayor ingreso de sólidos presentes en la solución de impregnación.

En lo que respecta a la WR, durante el proceso de IV ocurrió mayor egreso de masa correspondiente al agua interna que la aportada por los sólidos de la miel presente en la solución de impregnación, lo que se traduce en una disminución del peso inicial de los octavos de naranja.

Finalmente, para C_{aw} se obtuvieron valores negativos en todas las condiciones del tratamiento, indicando que los octavos tratados tenían una menor actividad de agua en comparación con los frescos sin tratar. El valor promedio de C_{aw} fue 0,5 %, dentro del rango experimental ensayado (Tabla 4.14). Estos valores son comparables a los reportados por Cháfer *et al.* (2008) para naranja mínimamente procesada e impregnada a vacío (3 inHg durante 10 min, con posterior tiempo de relajación de 25 min) con una solución de sacarosa (45 °Brix).

Todos los valores obtenidos para la a_w estaban alrededor de 0,98 lo cual está dentro del rango deseable (0,97-0,99) para las frutas mínimamente procesadas (Tapia de Daza *et al.*, 1996).

4.3.3. Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los atributos fisicoquímicos

Se obtuvieron los valores experimentales de los cambios en atributos fisicoquímicos de los octavos de naranja, luego del tratamiento de IV, al día 0 y 8 del almacenamiento (Tabla 4.16). De acuerdo con los ANOVAs de los modelos propuestos (Tabla 4.17), las respuestas afectadas por las variables del proceso fueron los cambios en la luminosidad, el coeficiente de elasticidad, la firmeza y sólidos solubles al día 0 (CL^*_0 , CCE_0 , CF_0 y CSS_0 , respectivamente), sin exhibir

falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) y con coeficientes de determinación aceptables ($R^2 > 74\%$). Por lo tanto, se obtuvieron los modelos correspondientes para estas respuestas. Los demás cambios no fueron en función de las variables del proceso. Por lo tanto, no se obtuvieron modelos predictivos para estas respuestas.

4.3.3.1. *Cambios en el color*

Los cambios en la luminosidad al día 0 (CL^*_{0}) fueron afectados por la presión en su término lineal (Tabla 4.17) y se determinó que luminosidad de la muestra recién tratada disminuyó conforme se incrementaba la presión de vacío (Figura 4.9). Se obtuvieron los modelos, completo (Ecuación 4.17) y reducido (Ecuación 4.18), para esta respuesta. A partir del modelo reducido, se estimó que podría mantenerse la luminosidad de los octavos impregnados similar a la de los octavos sin impregnar ($CL^*_{0} = 101\%$), usando una presión de 4 inHg y un tiempo de tratamiento de 29 min.

En el caso de las otras respuestas relacionadas con el color, cuyos términos del modelo no fueron significativos, se estimó un valor promedio dentro del rango experimental ensayado (Tabla 4.16) al día 0 y día 8: Ca^*_{0} , Cb^*_{0} y $CC^*_{ab0} = 105\%$ y $Ch_{ab0} = 100\%$, mientras que $CL^*_{8} = 100\%$, $Ca^*_{8} = 91\%$, $Cb^*_{8} = 117\%$, $CC^*_{ab8} = 115\%$ y $Ch_{ab8} = 104\%$. Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el día 0 y 8 solo para Cb^* y Ch_{ab} (datos no mostrados). CC^*_{ab8} era mayor CC^*_{ab0} , aunque los datos mostraron mucha variación, por lo que no se encontraron diferencias significativas (datos no mostrados). De acuerdo con los resultados, los octavos impregnados tenían un color amarillo más intenso después del almacenamiento, que el que tenían el día del tratamiento.

Tabla 4.16 Cambios en el color (CL*, Ca*, Cb*, CC*ab, y Chab), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	i	CL* (%)	Ca* (%)	Cb* (%)	CC* _{ab} (%)	Ch _{ab} (%)	CF (%)	CCE (%)	CSS (%)	CpH (%)
1	10	28	0	96,6	131,3	111,3	111,9	98,3	118,2	109,2	143,5	99,1
			8	99,2	119,7	110,7	110,9	98,9	127,3	128,9	149,9	97,2
2	2	28	0	101,6	111,9	113,9	113,8	100,3	87,2	97,4	145,8	103,8
			8	97,5	64,5	101,8	100,5	104,9	92,2	100,7	143,0	104,7
3	2	14	0	99,2	104,5	108,3	108,2	100,6	94,2	96,8	139,4	103,8
			8	100,0	73,8	111,8	109,4	104,0	99,6	101,2	141,2	103,8
4	2	42	0	101,2	87,9	87,9	87,9	99,9	121,2	116,9	146,4	99,1
			8	102,6	86,1	126,7	123,5	105,5	134,9	136,8	130,2	96,3
5	18	28	0	90,5	102,3	98,9	99,0	99,6	96,9	102,7	140,9	99,1
			8	97,2	123,3	117,0	117,0	100,0	128,3	136,3	142,9	99,1
6	18	42	0	93,8	94,5	102,0	101,7	101,2	94,9	92,1	155,1	103,8
			8	95,8	77,5	99,4	99,9	103,8	95,9	94,9	153,5	101,9
7	10	14	0	98,0	108,9	99,9	100,3	99,2	116,7	119,0	133,1	99,1
			8	99,0	111,1	108,3	107,6	100,7	123,1	126,7	134,3	99,1
8	18	14	0	94,2	110,5	105,7	105,9	99,4	79,8	96,2	141,4	104,7
			8	95,3	76,4	106,1	105,5	104,4	106,2	107,2	139,5	104,7
9	10	28	0	99,5	90,3	105,4	104,5	102,5	119,0	124,8	142,2	101,8
			8	99,7	76,3	125,7	120,9	106,2	119,6	139,5	138,3	99,1
10	10	42	0	101,6	113,0	127,1	126,3	102,1	115,0	110,9	145,3	100,9
			8	106,0	93,4	136,4	133,4	106,0	122,0	119,3	141,1	96,3
11	10	28	0	101,3	98,0	95,7	95,8	99,5	123,9	125,1	141,3	99,1
			8	106,5	97,9	138,9	135,5	106,5	141,5	135,3	140,2	99,1

Tabla 4.17 ANOVA de los modelos propuestos para los cambios en el color (CL*, Ca*, Cb*, CC*_{ab}, y Ch_{ab}), textura (CF y CCE), sólidos solubles (CSS) y pH (CpH) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Fuente	Gl	Suma de cuadrados								
		CL*	Ca*	Cb*	CC* _{ab}	Ch _{ab}	CF	CCE	CSS	CpH
i = 0 días										
P: presión de vacío	1	92,04**	1,50	2,40	1,82	0,06	160,17	67,34	5,61	0,14
t: tiempo de tratamiento	1	4,51	135,38	1,60	0,38	2,67	272,03	10,40	180,40*	2,41
P ²	1	21,04	86,31	77,15	74,09	0,18	1346,89*	724,67*	37,29	12,12
P*t	1	1,44	0,09	69,72	64,80	1,56	35,40	146,41	11,22	3,61
t ²	1	1,91	10,00	6,34	5,64	0,47	1,40	10,27	0,25	1,38
Falta ajuste	3	10,71	316,48	795,23	765,09	2,06	536,57	211,48	54,30	27,04
Error puro	2	11,25	949,73	124,09	129,89	9,36	19,05	165,42	2,45	4,86
R ² (%)		84,4	16,9	14,1	13,6	29,7	77,32	73,9	80,6	41,9
i = 8 días										
P	1	23,21	464,64	52,81	20,17	6,41	2,28	0,02	77,04	0,14
t	1	17,00	3,08	219,62	196,08	6,41	95,20	42,14	16,00	28,60
P ²	1	45,82	529,16	455,60	379,02	0,03	661,18	528,20	8,77	35,03
P*t	1	1,10	31,36	116,64	97,02	1,10	519,84	573,60	156,25	5,52
t ²	1	2,04	94,35	0,54	0,59	1,60	37,65	250,28	29,10	0,59
Falta ajuste	3	19,89	1717,47	538,91	464,63	17,78	994,79	1082,87	55,64	28,13
Error puro	2	33,26	941,79	398,16	306,11	37,05	246,85	56,99	77,42	2,41
R ² (%)		62,2	32,8	48,7	48,7	22,1	54,0	59,3	67,9	69,6

* significativo a $p \leq 0,05$; ** significativo a $p \leq 0,01$; Gl: grados de libertad;

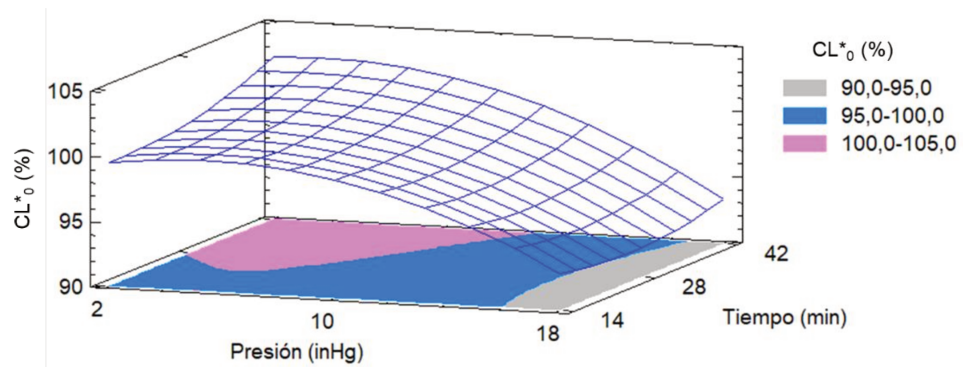


Figura 4.9 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la luminosidad al día 0 (CL^*_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel

$$CL^*_0 (\%) = 99,6863 + 0,56091P - 0,13264t - 0,04502P^2 - 0,00536Pt + 0,00443t^2$$

(Ecuación 4.17)

$$CL^*_0 (\%) = 100,155 + 0,33854P - 0,04141P^2$$

(Ecuación 4.18)

Con base en estos resultados, se determinó que la luminosidad de los octavos de naranja disminuyó por efecto del tratamiento de IV y que esta disminución fue mayor al aumentar la presión de vacío (Figura 4.9). El color naranja típico de la fruta era más intenso en los octavos impregnados, en comparación con los octavos frescos sin impregnar. Después del almacenamiento, ocurrió una aparente recuperación de la luminosidad y un ligero incremento en los parámetros de cromaticidad y tono que se proyectan como incremento del color amarillo.

Un efecto similar, en cuanto a la luminosidad y el tono, luego del tratamiento de impregnación, fue observado por Cháfer *et al.* (2008) en rodajas de naranja impregnadas (con sacarosa o glucosa). Aunque en dicho estudio no se reportó incremento de cromaticidad ni cambios significativos durante el almacenamiento. Por otro lado, Jeon y Zhao (2005) también reportaron disminución inicial de la luminosidad en rodajas de manzana, luego del tratamiento de impregnación (3 inHg por 15 min y 20 min de tiempo de relajación) con solución de miel silvestre, con ligeros cambios luego del almacenamiento.

4.3.3.2. Cambios en textura

Los cambios en firmeza y el coeficiente de elasticidad al día 0 (CF_0 y CCE_0 , respectivamente), fueron afectados por la presión en su término cuadrático (Tabla 4.17). De manera general, se observó que la textura de los octavos impregnados era más firme que los octavos sin impregnar, al usar presión media. Pero a presión mínima y máxima la textura fue menos firme, principalmente en el tiempo más corto del tratamiento, en la mayoría de los casos (Figura 4.10a y 4.10b).

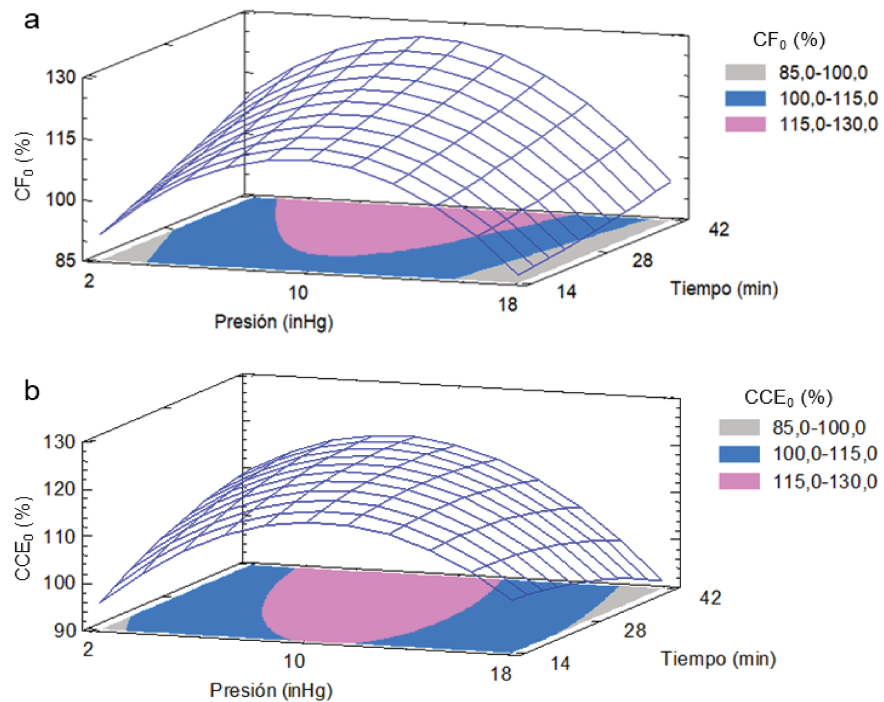


Figura 4.10 Superficie de respuesta y áreas de contorno para los cambios en la firmeza (a) y el coeficiente de elasticidad (b) al día 0 (CF_0 y CCE_0 , respectivamente) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados al vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Los modelos obtenidos para CF_0 se muestran en las ecuaciones 4.19 (completo) y 4.20 (reducido), mientras que para CCE_0 en las ecuaciones 4.21 (completo) y 4.21 (reducido).

$$CF_0(\%)=70,7578+7,30351P+0,53433t-0,36028P^2-0,02656 Pt+0,00379 t$$

(Ecuación 4.19)

$$CF_0(\%) = 75,8329 + 6,49792P + 0,48095t - 0,35719P^2$$

(Ecuación 4.20)

$$CCE_0(\%) = 70,555 + 6,37911P + 1,20941t - 0,26427P^2 - 0,05402Pt - 0,01027t^2$$

(Ecuación 4.21)

$$CCE_0(\%) = 79,5969 + 6,54687P + 0,54018t - 0,27266P^2 - 0,05402Pt$$

(Ecuación 4.22)

A partir de las ecuaciones 4.20 y 4.22, se estimaron las condiciones óptimas para la menor modificación de la firmeza (15 inHg y 17 min) y el coeficiente de elasticidad (2,5 inHg y 14 min).

Los cambios de textura observados en los octavos de naranja luego de la IV fueron consistentes con lo mencionado por Zhao y Xie (2004), respecto a que la firmeza de un tejido vegetal puede ser disminuida al impregnarse con una solución hipertónica, debido a la presión ejercida por el fluido sobre la membrana celular. Sin embargo, lo anterior se observó a presión máxima y mínima del tratamiento, pero no a la presión media, donde la firmeza fue incrementada.

Después del almacenamiento, los cambios en firmeza (CF_8) y coeficiente de elasticidad (CCE_8) mostraron un valor promedio, dentro del rango experimental (Tabla 4.16), de 117 y 121%, respectivamente. Es decir, la firmeza y el coeficiente de elasticidad incrementaron 17% y 21%, respectivamente, indicando que los octavos tratados y almacenados tenían una textura más firme, que los frescos sin tratar. El incremento de firmeza en octavos de naranja almacenados, ha sido reportado por otros autores (Barrios *et al.*, 2014; Karacay y Ayhan, 2010) y atribuido a la deshidratación superficial debido a la pérdida de agua, durante el almacenamiento.

4.3.3.3. Cambios en sólidos solubles y pH

Los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) fueron afectados por el tiempo de tratamiento (Tabla 4.17). El contenido de sólidos solubles de los octavos impregnación a vacío con solución de miel se incrementó, con respecto a los octavos frescos sin impregnar y el incremento era superior a mayor tiempo de tratamiento (Figura 4.11).

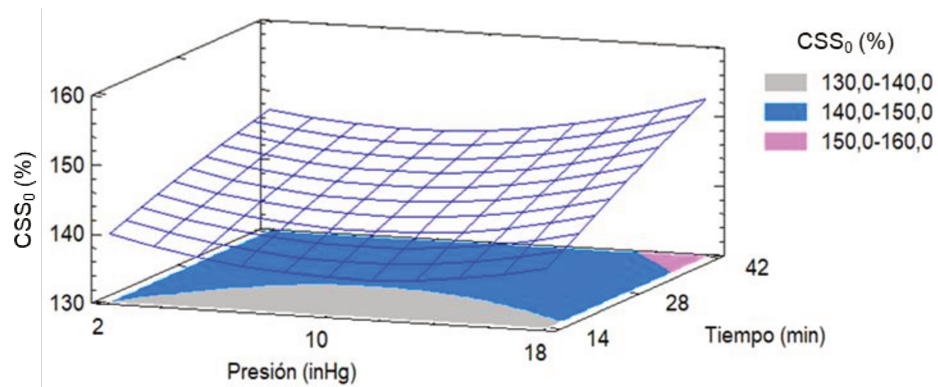


Figura 4.11 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en sólidos solubles al día 0 (CSS_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel

Se obtuvo el modelo completo (Ecuación 4.23) y reducido (Ecuación 4.24) para CSS_0 . A partir de este último, se estimó un incremento máximo de 52%, tratando los octavos durante el tiempo más prolongado del ensayo, con la presión máxima de vacío (42 min, 18 inHg, respectivamente).

$$CSS_0 (\%) = 137,96 - 1,49693P + 0,33159t + 0,05995P^2 + 0,01496 Pt - 0,00160t^2$$

(Ecuación 4.23)

$$CSS_0 (\%) = 140,165 - 1,59167P + 0,24211t + 0,05865P^2 + 0,01496 Pt$$

(Ecuación 4.24)

Los cambios en sólidos solubles después del almacenamiento (CSS_8) no fueron afectados por las variables del proceso, el valor promedio fue de 141%, indicando que los octavos impregnados almacenados tenían un contenido de SS 41% superior al de los octavos frescos sin tratar.

Los cambios en pH al día 0 y 8 del almacenamiento (CpH_0 y CpH_8 , respectivamente) no fueron afectados por las variables del proceso (Tabla 4.17) y el valor promedio estimado fue 100 y 101%, respectivamente. Esto indicó que el pH de los octavos impregnados se mantuvo estable después del tratamiento de IV y luego del almacenamiento refrigerado. Resultados similares para octavos de naranja, fueron reportados por Barrios *et al.* (2014) y Karacay y Ayhan (2010). Esto puede deberse a la capacidad buffer del tejido de la fruta que minimiza las variaciones en pH a medida que varía la acidez.

4.3.4. Efecto de la IV suave con SO de miel sobre los cambios en el potencial saludable

Se determinaron los cambios en el potencial saludable, luego del tratamiento de IV, al día 0 y 8 del almacenamiento (Tabla 4.18). Los ANOVAs de los modelos propuestos para representar estas respuestas (Tabla 4.19) indicaron que al día 0, las variables del proceso tuvieron efecto significativo sobre los cambios en el contenido de fenoles totales, narirutina y hesperidina (CFT_0 , CNa_0 y $CHes_0$, respectivamente). El día 8 del almacenamiento, las respuestas en función de las variables del proceso fueron los cambios en ácido ascórbico, vitamina C y capacidad antioxidante (CAA_8 , $CVitC_8$ y CCA_8 , respectivamente). Por lo tanto, se obtuvieron modelos predictivos para estas respuestas.

4.3.4.1. Cambios en fenoles totales

Los cambios en fenoles totales al día 0 (CFT_0) dependían de la presión en su término cuadrático (Tabla 4.19). A presión mínima y máxima de vacío, el contenido de fenoles de los octavos de naranja IV fue superior que en los octavos frescos sin impregnar. Sin embargo, en la presión media, se obtuvieron valores por debajo, indicando reducciones, excepto en el tiempo más prolongado del tratamiento (Figura 4.12).

Se obtuvieron los modelos correspondientes (completo, ecuación 4.25; reducido, ecuación 4.26) y, partir del modelo reducido, se estimó un incremento máximo del 26%, para los fenoles totales en los octavos impregnados, usando una presión de vacío de 2 inHg y tiempo de 42 min.

Después del almacenamiento, el contenido de fenoles totales de los octavos impregnados tuvo un incremento promedio del 26% (CFT_8 promedio de las 11 experiencias igual a 126%) con respecto a los octavos frescos sin impregnar. El incremento en compuestos fenólicos durante el almacenamiento ha sido reportado previamente por otros investigadores (Rapisarda *et al.*, 2008; Plaza *et al.*, 2011; Contreras-Oliva *et al.*, 2012). Al respecto, se ha mencionado en la literatura sobre la síntesis de metabolitos secundarios de los productos frescos cortados, como respuesta al estrés fisiológico, lo que se refleja en mayor contenido de compuestos fenólicos (Francis *et al.*, 2012; Jideani *et al.*, 2017; Pirovani *et al.*, 2015).

Tabla 4.18 Cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CVitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Corrida	Presión (inHg)	Tiempo (min)	i	CFT (%)	CAA (%)	CVitC (%)	CCA (%)	CNar (%)	CHesp (%)
1	10	28	0	98,6	103,3	100,0	97,1	84,2	91,0
			8	131,5	97,3	97,8	104,9	135,1	138,4
2	2	28	0	107,0	101,9	114,7	95,1	99,6	102,0
			8	120,0	96,4	100,8	103,2	119,8	123,3
3	2	14	0	103,8	103,7	104,1	95,0	113,3	113,3
			8	120,9	102,7	104,7	100,3	131,3	136,3
4	2	42	0	120,7	108,1	112,5	100,3	95,1	106,1
			8	126,9	100,9	106,2	97,6	113,3	117,7
5	18	28	0	127,5	107,9	112,6	104,7	97,3	108,6
			8	133,1	83,8	95,6	95,9	114,8	122,5
6	18	42	0	107,9	86,5	95,0	96,4	110,8	112,4
			8	117,5	82,8	93,8	93,9	111,2	113,9
7	10	14	0	86,8	115,3	124,9	92,7	81,5	90,9
			8	133,6	83,4	99,2	98,9	129,8	135,9
8	18	14	0	116,5	96,8	103,4	95,7	95,2	100,1
			8	126,6	77,8	85,9	91,5	108,8	113,5
9	10	28	0	93,3	107,5	105,5	98,4	90,8	98,2
			8	123,6	101,4	98,6	105,6	121,3	123,7
10	10	42	0	114,1	116,2	116,4	104,6	96,1	99,2
			8	128,8	89,3	95,4	101,5	109,0	118,8
11	10	28	0	95,7	107,0	104,7	99,4	88,2	95,0
			8	124,7	101,2	100,5	102,8	124,7	133,8

Tabla 4.19 ANOVA de los modelos propuestos para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (CAA), vitamina C (CVitC), fenoles totales (CFT), capacidad antioxidante (CCA), narirutina (CNar) y hesperidina (CHesp) en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), al tiempo (i) 0 y 8 del almacenamiento

Fuente	Gl	Suma de cuadrados					
		CFT	CAA	CVitC	CCA	CNar	CHesp
i = 0 días							
P: Presión de vacío	1	69,36	84,38	68,68	6,83	3,38	0,02
t: tiempo de tratamiento	1	211,23	4,17	12,04	53,40	22,04	29,93
P ²	1	675,26*	224,98	41,34	0,09	385,07**	353,21**
P*t	1	162,56	54,02	70,56	5,29	264,06*	95,06
t ²	1	0,57	5,15	22,20	5,25	24,80	6,15
Falta de ajuste	3	377,72	302,14	505,97	75,52	88,55	48,20
Error puro	2	14,09	10,53	17,66	2,66	20,81	26,03
R ²		74,7	54,3	27,9	47,8	87,8	88,9
i = 8 días							
P	1	14,73	515,23*	220,83**	65,34**	146,03	125,13
t	1	10,40	13,80	5,23	0,88	220,83	207,68
P ²	1	48,00	12,26	0,08	53,97**	101,22	161,28
P*t	1	57,00	11,56	10,24	6,50	104,04	90,25
t ²	1	0,22	89,69	2,94	39,84**	45,14	31,55
Falta de ajuste	3	120,23	166,58	60,92	3,05	100,64	76,11
Error puro	2	36,62	10,69	3,85	4,25	103,39	113,09
R ²		45,7	79,1	78,7	96,5	76,6	78,0

* después de una cifra: significativo a $p \leq 0,05$; ** después de una cifra: significativo a $p \leq 0,01$; Gl: grados de libertad

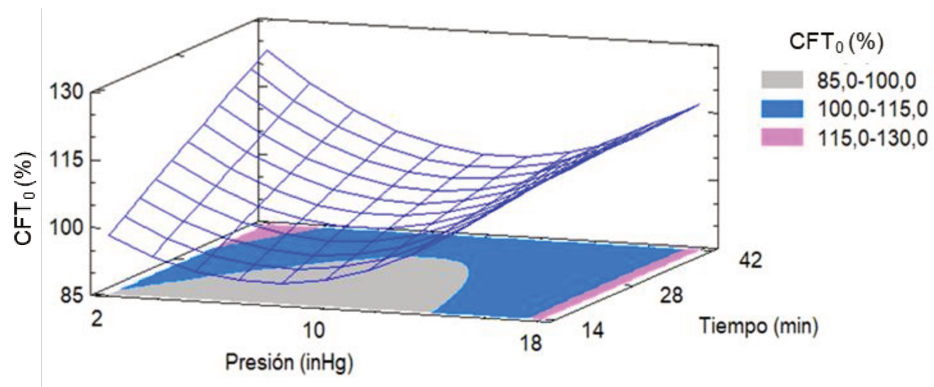


Figura 4.12 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en fenoles totales al día 0 (CFT_0) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados con solución de miel (50 °Brix)

$$CFT_0(\%) = 89,4504 - 3,08322P + 1,12834t + 0,25510P^2 - 0,05692Pt - 0,00242t^2$$

(Ecuación 4.25)

$$CFT_0(\%) = 95,2083 - 3,46875P + 0,99301t + 0,25313P^2 - 0,05692Pt$$

(Ecuación 4.26)

4.3.4.2. Cambios en ácido ascórbico y vitamina C

Al día 0, los cambios en ácido ascórbico y vitamina C (CAA_0 , y $CVitC_0$, respectivamente) no fueron afectados por las variables del proceso y el valor promedio estimado, dentro del rango experimental (Tabla 4.18) fue de 105 y 109%, respectivamente. Es decir, que el contenido de ácido ascórbico y vitamina C de los octavos de naranja se incrementó 5 y 9%, respectivamente, después del tratamiento de IV, en comparación con la fruta fresca sin tratar.

Después del almacenamiento, los cambios en ácido ascórbico y vitamina C (CAA_8 y $CvitC_8$, respectivamente) estuvieron relacionados con la presión de vacío que se usó durante el tratamiento (Tabla 4.19). Ocurrieron ligeros incrementos de ácido ascórbico y vitamina C, en los octavos que fueron impregnados usando una presión mínima (cerca del 5%). Mientras que en los octavos donde se aplicó la presión media y máxima, el contenido de ambos se redujo (Figura 4.13 a y b).

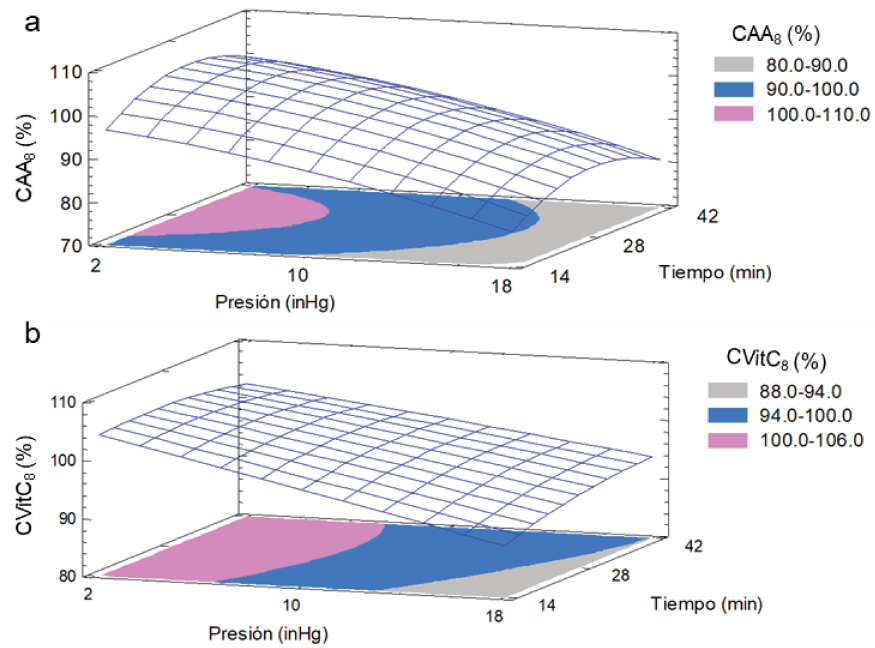


Figura 4.13 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el contenido de ácido ascórbico (a) y vitamina C (b) al día 8 (CAA₈ y CvitC₈, respectivamente) en función de la presión y el tiempo de tratamiento de octavos de naranja impregnados con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvieron las ecuaciones de los modelos para estimar los cambios de ácido ascórbico (modelo completo, ecuación 4.27 y modelo reducido, ecuación 4.28) y vitamina C (modelo completo, ecuación 4.29 y modelo reducido, ecuación 4.30) en los octavos tratados luego del almacenamiento refrigerado. A partir del modelo reducido correspondiente, se estimaron las condiciones operativas con las que podría alcanzarse un incremento máximo de 5% y 6% en el contenido de ácido ascórbico (2 inHg y 30 min de tiempo de tratamiento) y vitamina C (2 inHg y 14 min de tiempo de tratamiento), respectivamente.

$$CAA_8(\%) = 82.4625 - 0.89583P + 1.65655t - 0.03438P^2 + 0.01518Pt - 0.03036t^2$$

(Ecuación 4.27)

$$CAA_8(\%) = 78,4233 - 1,1583P + 1,97595t - 0,03036t^2$$

(Ecuación 4.28)

$$CVitC_8(\%) = 103.853 - 1.10241P + 0.23208t - 0.0028P^2 + 0.01429Pt - 0.0055t^2$$

(Ecuación 4.29)

$$CVitC_8 (\%) = 109,629 - 1,15833P - 0,14286 t + 0,0142857Pt$$

(Ecuación 4.30)

La reducción en AA de los octavos de naranja IV, después de 8 días de almacenamiento (2 °C), fue similar a la reportada por Van de Velde *et al.* (2013), para octavos de naranja almacenados durante 10 días a 3 °C. En cuanto a VitC, los valores concuerdan con los reportados por Plaza *et al.* (2011) para gajos de naranja, los cuales indicaron una pérdida del 12%, luego de almacenamiento a 4 °C durante 8 días.

Se han reportado pérdida de entre 7 y 36% en el contenido de ácido ascórbico de frutas cítricas mínimamente procesadas, durante el almacenamiento y estas pérdidas están relacionadas con la degradación oxidativa que es estimulada por la presencia de luz, oxígeno, el calor y reacciones enzimáticas (Agostini *et al.*, 2013).

4.3.4.3. *Cambios en la capacidad antioxidante*

El día del procesamiento, las variables del proceso no influyeron a los cambios en la capacidad antioxidante (CCA₀). El valor promedio experimental, dentro del rango ensayado (Tabla 4.18) fue de 98%, indicando que la capacidad antioxidante de los octavos de naranja impregnados se redujo únicamente 2%, con respecto a los octavos frescos sin impregnar.

Después del almacenamiento, los cambios en la capacidad antioxidante (CCA₈) estaban relacionados con la presión de vacío y el tiempo de tratamiento (Tabla 4.19). Ocurrieron incrementos (3-5%) en los octavos que fueron impregnados usando presión media o mínima, durante los tiempos medios de tratamiento, mientras que en los octavos que fueron tratados bajo condiciones mínimas de presión y tiempo la actividad antioxidante era similar a la de la fruta fresca sin impregnar. Por otra parte, se registraron reducciones (4-8%) en los octavos que fueron impregnados a mayor presión de vacío, en los tres tiempos ensayados (Figura 4.14).

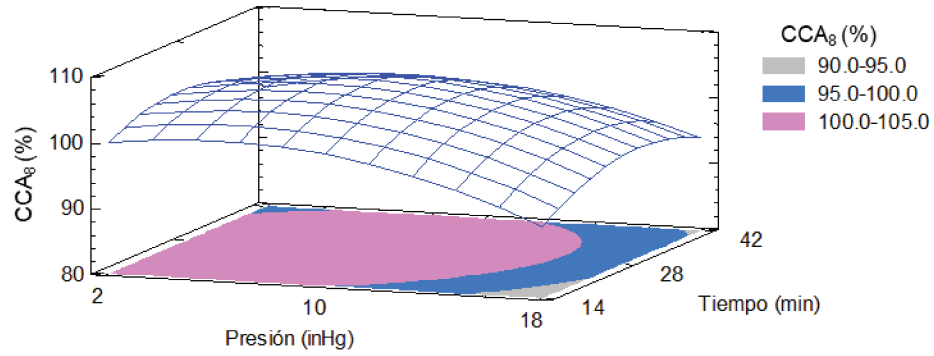


Figura 4.14 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en la capacidad antioxidante al día 8 (CCA_8) en función de la presión de vacío y el tiempo de tratamiento en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvieron los modelos correspondientes para CCA_8 (completo, ecuación 4.31 y reducido, ecuación 4.32) y a partir del modelo reducido, se estimó que los octavos de naranja impregnados, a presión de 2 inHg y tiempo de tratamiento de 28 min, podrían alcanzar una capacidad antioxidante, después del almacenamiento, superior a la de los octavos frescos sin impregnar (hasta 5%).

$$CCA_8(\%) = 87,7968 + 0,71118P + 1,04662t - 0,07212P^2 + 0,01138Pt - 0,02023t^2$$

(Ecuación 4.31)

$$CCA_8(\%) = 85,376 + 1,02993P + 1,13308t - 0,0721217P^2 - 0,0202336t^2$$

(Ecuación 4.32)

4.3.4.4. Cambios en flavanonas

Los cambios en narirutina y hesperidina al día cero ($CNar_0$ y $CHesp_0$, respectivamente) fueron afectados por las variables del proceso (Tabla 4.19). El contenido de narirutina de los octavos de naranja impregnados, disminuyó al aumentar la presión de vacío, durante el tiempo más corto del tratamiento. Pero, durante el tiempo más prolongado, se observó el efecto contrario (Figura 4.15a). En cuanto a la hesperidina, los octavos impregnados tenían mayor contenido que los octavos frescos sin impregnar, cuando se usó la presión mínima o máxima y menor cuando se usó presión media (Figura 4.15b).

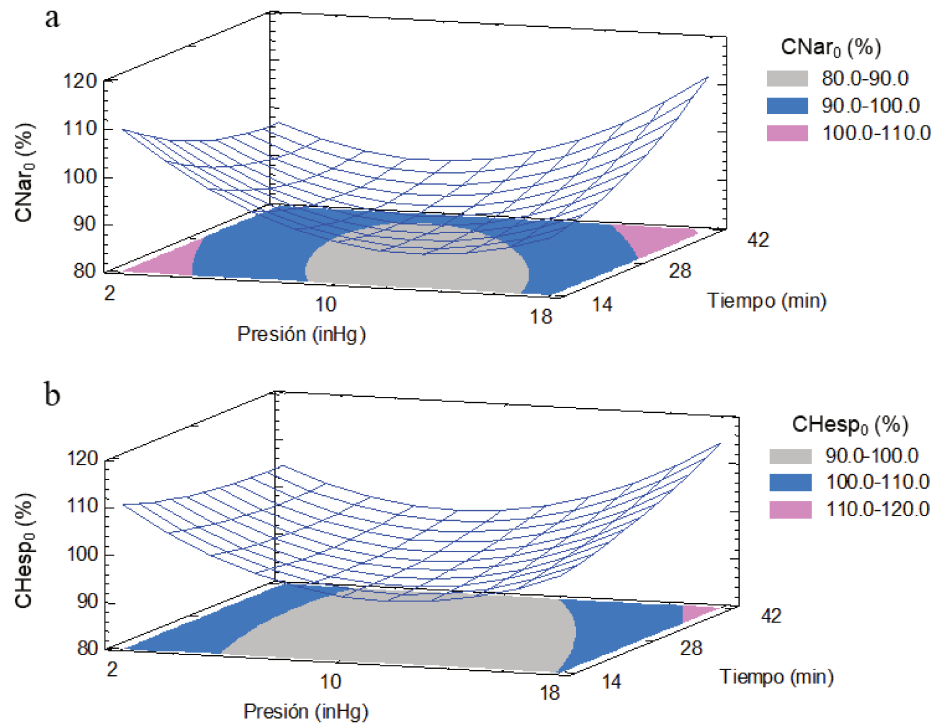


Figura 4.15 Gráfico de superficie y áreas de contorno para los cambios en el contenido de naringina (a) y hesperidina (b) al día 0 (C_{Nar_0} y C_{Hesp_0} , respectivamente) en función de la presión de vacío y el tiempo de tratamiento en octavos de naranja impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix)

Se obtuvieron los modelos completo y reducido, para estimar los cambios en el contenido de naringina (Ecuaciones 4.33 y 4.34, respectivamente) y hesperidina (Ecuaciones 4.35 y 4.36, respectivamente). Mediante los modelos reducidos, se estimó que se podría alcanzar un incremento máximo del 11% en naringina y 14% en hesperidina para octavos de naranja impregnados con miel, al aplicar una presión de vacío de 18 inHg con un tiempo de tratamiento de 42 min.

$$C_{Nar_0}(\%)=137,944-6,23098P-1,5304t+0,20103P^2+0,07545Pt+0,01641t^2$$

(Ecuación 4.33)

$$C_{Nar_0}(\%)=127,71-6,49896P-0,61161t+0,21443P^2+0,07545Pt$$

(Ecuación 4.34)

$$C_{Hesp_0}(\%)=126,702-4,91497P-0,72086t+0,18550P^2+0,04353Pt+0,00795t^2$$

(Ecuación 4.35)

$$CHesp_0(\%)=121,742-5,04479P-0,27574t+0,19099P^2+0,04353Pt$$

(Ecuación 4.36)

Después del almacenamiento, los cambios en narirutina y hesperidina (CNar₈ y CHesp₈, respectivamente) no estaban relacionados a las variables del diseño (Tabla 4.18). El valor experimental promedio, dentro del rango ensayado (Tabla 4.18), fue de 120 y 125% para CNar₈ y CHesp₈, respectivamente. Es decir, que los octavos impregnados almacenados tenían un contenido de narirutina y hesperidina superior (20 y 25%, respectivamente) al de los octavos frescos sin impregnar.

Estos resultados se corresponden con el incremento observado en el contenido de fenoles totales al día 8 y, como se mencionó antes, se relaciona a la síntesis de metabolitos secundarios por parte del fruto cortado como respuesta al estrés fisiológico inducido durante el almacenamiento.

4.3.4. Optimización de respuestas múltiples de la IV con miel de octavos de naranja y validación de los modelos predictivos

Una vez analizados los datos obtenidos del diseño, se planteó un escenario de optimización de respuestas múltiples, a través de la función de deseabilidad de Derringer. En este caso, las respuestas consideradas fueron los parámetros de transferencia de masa (SG, WL, WR) y los cambios en firmeza, contenido de sólidos solubles y fenoles totales, todos al día 0 (CF₀, CSS₀ y CFT₀, respectivamente). Los criterios utilizados durante este planteamiento se muestran en la tabla 4.20, donde se puede observar que a SG y WL se les dio mayor importancia que el resto de las respuestas consideradas para la optimización (valor de impacto más alto), asumiendo que tienen mayor influencia sobre las demás.

Tabla 4.20 Criterios utilizados para optimizar el tratamiento de impregnación por vacío con solución de miel (50 °Brix) de octavos de naranja usando la función de Derringer

Respuesta	Mínimo	Máximo	Criterios	
	observado (%)	observado (%)	Objetivo	Impacto
SG	2,9	5,2	Maximizar	4,0
WL	6,0	8,3	Minimizar	5,0
WR	2,3	4,2	Minimizar	1,0
CF ₀	79,8	123,9	Acierto 100%	1,0
CSS ₀	133,1	155,1	Maximizar	1,0
CFT ₀	86,9	127,1	Maximizar	1,0

SG: ganancia de sólidos; WL: pérdida de agua; WR: reducción de peso; CF₀: cambio en la firmeza al día 0; CSS₀: cambio en los sólidos solubles al día 0; CFT₀: cambio en fenoles totales al día 0

Mediante la función de deseabilidad (D), se estimó que las condiciones óptimas de las variables del proceso, para cumplir con los objetivos propuestos para las respuestas consideradas, son una presión de vacío de 16 inHg durante un tiempo total de tratamiento igual a 22 min, alcanzando un valor de deseabilidad global (D) igual a 0,6.

Los resultados experimentales obtenidos en el ensayo de validación, bajos las condiciones de P y t optimizadas, no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) con los valores predichos por los modelos (Tabla 4.21). Por lo tanto, se confirma que los modelos desarrollados son adecuados para la descripción del proceso de IV variando la presión de vacío y el tiempo total de tratamiento.

Por otra parte, las respuestas que no fueron afectadas por las variables del proceso, durante el ensayo experimental, también fueron evaluadas en los octavos de naranja impregnados bajo condiciones optimizadas y el cambio promedio (Tabla 4.22) de cada una de estas respuestas estaba dentro del rango de los valores obtenidos durante las corridas experimentales (Tablas 4.14, 4.16 y 4.18).

Tabla 4.21 Valores predichos y experimentales para la ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL), reducción de peso (WR) y los cambios en textura, sólidos solubles y fenoles totales al día 0 (CF₀, CSS₀, y CFT₀, respectivamente) en octavos de naranja impregnados a vacío con SO de miel (50 °Brix) bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min)

Respuesta	Predicho (%)	Inferior* (%)	Superior* (%)	Experimental (%)
SG	4,1 ^a	3,3	4,9	4,1 ± 0,3 ^a
WL	6,7 ^a	6,0	7,4	6,8 ± 0,2 ^a
WR	2,6 ^a	2,2	3,0	2,7 ± 0,1 ^a
CF ₀	99,6 ^a	84,9	114,3	94,7 ± 2,7 ^a
CSS ₀	141,1 ^a	136,4	145,8	138,1 ± 0,8 ^a
CFT ₀	108,9 ^a	96,8	121,1	101,1 ± 4,6 ^a

*intervalos de confianza del 95%. Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa, de acuerdo con los intervalos de confianza.

Tabla 4.22 Cambios en parámetros de calidad de octavos de naranja impregnados a vacío, bajo condiciones óptimas (Presión de vacío: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min)

Respuesta (%)	Tiempo de almacenamiento	
	0 días	8 días
Caw	-0,4	nd
CL*	fv	98,7
Ca*	88,6	80,2
Cb*	95,9	102,5
CC* _{ab}	95,6	101,6
Ch _{ab}	101,2	102,8
CF	fv	111,9
CCE	fv	116,0
CSS	fv	130,7
CpH	99,4	97,1
CFT	fv	119,3
CAA	100,7	fv
CVitC	99,6	fv
CCA	104,4	fv
CNar	fv	109,3
CHesp	fv	121,7

Ca_w, cambios en actividad de agua; CL*, Ca*, Cb*, CC*_{ab}, y Ch_{ab}, cambios en parámetros de color; CF, cambios en firmeza; CCE, cambios en coeficiente de elasticidad; CSS, cambios en sólidos solubles; CpH, cambios en pH; CFT, cambios en fenoles totales; CAA, cambios en ácido ascórbico; CVitC, cambios en vitamina C; CCA, cambios en capacidad antioxidante; CNar cambios en narirutina; CHesp, cambios en hesperidina; nd, no determinado; fv, función de las variables del proceso

4.3.5. Análisis microbiológico

En el recuento microbiológico para los octavos de naranja frescos, usados en los ensayos de validación, se obtuvo 2,6 Log UFC g⁻¹ para ATM e inferior a 1.0 Log UFC g⁻¹ para MyL y Psic. Después de la IV con miel, bajo condiciones óptimas, ocurrió un aparente incremento en MyL siendo el recuento de 1,2 Log UFC g⁻¹, mientras que ATM y Psic no se modificaron. Después del almacenamiento, ATM y MyL eran de 5,8 y 1.6 Log UFC g⁻¹, respectivamente y Psic se mantuvo inferior a 1,0 Log UFC g⁻¹.

Los recuentos obtenidos en este trabajo para MyL en octavos de naranja IV con miel estaban por debajo de lo reportado por Barrios *et al.* (2014) en octavos de naranja valencia frescos y almacenados en atmósfera modificada pasiva (8 días a 6.1-8.5 °C). Mientras que los recuentos para ATM, eran superiores a los reportados por los autores. La diferencia en los recuentos observados en este trabajo puede estar relacionada al uso de una temperatura de almacenamiento más baja (2.0±0.5 °C) que la reportada por Barrios *et al.* (2014).

Los resultados son congruentes con lo reportado en otras investigaciones para frutas frescas cortadas comercializadas (Tournas *et al.*, 2006; Abadía *et al.*, 2008) y naranjas frescas cortadas (Pretel *et al.*, 1998; Rapisarda *et al.*, 2006; Plaza *et al.*, 2011; Agostini *et al.*, 2013). Todos los recuentos, tanto en el día del procesamiento como después del almacenamiento, fueron satisfactorios dentro del criterio microbiológico para los productos frescos cortados (< 6 Log UFC g⁻¹) (Pirovani *et al.*, 2006).

4.3.6. Análisis sensorial

En la tabla 4.23 se presenta el promedio de las puntuaciones obtenidas, en el análisis sensorial descriptivo, para los octavos de naranja tanto frescos sin impregnar como los impregnados en el día 0 y el día 8. El ANOVA indicó que no había diferencia significativa en el brillo, textura, jugosidad y acidez entre los octavos de naranja impregnada (NIV) y los octavos de naranja fresca sin impregnar (NFS), en el día 0 ni en el día 8.

Tabla 4.23 Perfil sensorial de octavos de naranja frescos sin impregnar e impregnados a vacío suave con solución de miel (50 °Brix), bajo condiciones óptimas (Presión: 16 inHg; tiempo de tratamiento: 22 min)

Término descriptor	octavos de naranja frescos sin impregnar	octavos de naranja impregnados	
		Día 0	Día 8
		olor típico	6,4 ± 1,7 ^a
olor miel	0,3 ± 0,2 ^a	6,6 ± 1,8 ^b	1,0 ± 0,6 ^a
olor extraño	0,4 ± 0,5 ^a	0,3 ± 0,4 ^a	1,0 ± 0,8 ^a
color típico	7,6 ± 0,6 ^a	7,7 ± 0,4 ^a	6,6 ± 0,6 ^b
Brillo	7,4 ± 0,5 ^a	7,7 ± 0,7 ^a	6,7 ± 1,1 ^a
Textura	6,2 ± 1,8 ^a	5,9 ± 1,9 ^a	5,6 ± 2,1 ^a
Jugosidad	7,6 ± 0,6 ^a	7,8 ± 0,8 ^a	6,5 ± 0,7 ^a
Dulzor	4,3 ± 0,9 ^a	6,6 ± 1,1 ^b	6,3 ± 1,2 ^b
Acidez	3,7 ± 1,2 ^a	2,8 ± 1,0 ^a	3,1 ± 0,9 ^a
Sabor típico	7,1 ± 1,1 ^a	5,2 ± 0,8 ^b	5,0 ± 1,4 ^b
Sabor miel	0,4 ± 0,5 ^a	5,9 ± 0,8 ^b	2,2 ± 1,5 ^c
Sabor extraño	0,2 ± 0,2 ^a	0,4 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,6 ^a

Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con Tukey HSD, promedio \pm desviación estándar

En el día 0, no hubo diferencias en color típico, pero NIV era más dulce, con olor y sabor a miel, aunque con menor sabor y olor típico. En el día 8, el color típico disminuyó, igual que el olor a miel (“ligeramente perceptible”) y sabor a miel, estos últimos probablemente debido a la volatilidad de los compuestos característicos de la miel. El dulzor se mantuvo durante el almacenamiento. Adicionalmente, no se generaron sabores ni olores extraños en NIV hasta el día 8 (por debajo del término ancla “ligeramente perceptible”). Los resultados en dulzor son congruentes con el incremento en sólidos solubles determinado instrumentalmente.

4.4. Análisis comparativo entre las matrices estudiadas y recomendaciones

Los valores experimentales de los parámetros de transferencia de masa en ambas matrices, demostraron que la ganancia de sólidos y pérdida de agua fue mayor en los octavos de naranja. En cuanto a la reducción de peso, los valores para los gajos de mandarina, fueron negativos, indicando ganancia de peso, en lugar de reducción como en los octavos de naranja. Estos resultados confirmaron que la membrana presente en los gajos de mandarina limitó el flujo del líquido de la matriz interna del fruto hacia la SO, así como el ingreso de los sólidos presentes en la SO hacia el interior del fruto, a diferencia de los octavos de naranja donde hubo mayor accesibilidad de la SO a la superficie expuesta.

Las diferencias en cuanto a la transferencia de masa se vieron reflejadas, principalmente, en el incremento de sólidos solubles que en los octavos de naranja fue prácticamente el doble que el determinado en los gajos de mandarina. De esta manera, no solo ocurrió un mayor aporte de sólidos solubles en los octavos de naranja, sino que también se observaron mayores incrementos y retenciones en el potencial saludable de la misma. Por lo tanto, se puede asumir que los octavos de naranja tuvieron una respuesta más adecuada al tratamiento de impregnación con miel, beneficiándose más de las ventajas del mismo. Por lo tanto, sería recomendable, para el caso de las mandarinas, modificar la permeabilidad de la membrana de los gajos con algún pretratamiento que facilite la transferencia de masa, para una mayor eficiencia del proceso.

Adicionalmente, en el análisis sensorial descriptivo cuantitativo, que se realizó a cada fruta por separado, los octavos de naranja recibieron mayor puntuación en atributos como el color, sabor y olor típicos, así como en el dulzor y sabor a miel, lo que sería de mayor relevancia para los fines de este trabajo de investigación. Sin embargo, estos resultados no pueden ser extrapolados para determinar si existe una mayor preferencia y/o potencial consumo entre ambos productos obtenidos. Para estos fines, es necesario realizar otro tipo de análisis sensorial (pruebas afectivas de preferencia y/o aceptabilidad) que se realiza con un gran número de consumidores potenciales o reales (al menos 50).

5.CONCLUSIONES

La metodología de superficie de respuesta fue adecuada para representar los cambios en los atributos seleccionados para estudiar la operación de impregnación por vacío (IV) en gajos de mandarina y octavos de naranja utilizando una solución osmótica (SO) de miel (50 °C), dentro del rango de presión (2-18 inHg) y tiempo (14-42 min) seleccionado.

Se obtuvieron modelos matemáticos que permiten predecir las respuestas en función de las variables del proceso. Para los gajos de mandarina impregnados, se modelaron la pérdida de agua y los cambios en el coeficiente de elasticidad, los sólidos solubles y la vitamina C en el día 0, como así también los cambios en la firmeza en el día 8. Para octavos de naranja impregnados, se modelaron la pérdida de agua, ganancia de sólidos y reducción de peso, así como los cambios en la luminosidad, firmeza, coeficiente de elasticidad, sólidos solubles, fenoles totales, narirutina y hesperidina en el día 0. Además, se modeló el cambio en el ácido ascórbico, vitamina C y capacidad antioxidante en el día 8.

No fue posible obtener modelos predictivos para las demás respuestas evaluadas, lográndose productos con la siguiente caracterización (1 y 2):

1. *Gajos de mandarina*: el día de la IV hubo una ganancia de sólidos e incremento de peso (valores negativos del WR) del 2.3 y -1,1%, respectivamente. El a_w se redujo ligeramente, resultando dentro los valores esperados para frutas mínimamente procesadas. Ocurrió una leve pérdida de luminosidad y leve incremento de la cromaticidad y tonalidad en comparación con los gajos sin impregnar, mientras que la firmeza y el pH fueron similares. Los cambios en el potencial saludable indicaron una leve reducción (no > al 6%) en los fenoles totales, el ácido ascórbico, la narirutina y hesperidina, aunque estos cambios no impactaron en la capacidad antioxidante de los gajos impregnados que se mantuvo igual a la de los gajos sin impregnar. Después del almacenamiento, la luminosidad no cambió, mientras la cromaticidad y tonalidad de los gajos impregnados incrementaron un poco más de lo alcanzado en el día de procesamiento, indicando un color más vivido y más amarillo. También ocurrió un incremento en el contenido de narirutina y hesperidina, mientras que el pH, el coeficiente de elasticidad y el contenido de sólidos solubles no cambiaron con respecto al día de procesamiento.

2. Octavos de naranjas: se obtuvo también, como en las mandarinas, una leve reducción en la a_w en el día de procesamiento, manteniéndose en los valores habituales para frutas mínimamente procesadas. En cuanto a los cambios fisicoquímicos y el potencial saludable, se observó un ligero incremento en la cromaticidad (< 5%) y mantenimiento del tono del producto, el pH no se modificó y ocurrió un incremento en el ácido ascórbico y vitamina C (5 y 9%, respectivamente), con una leve reducción en la capacidad antioxidante. Después del almacenamiento, la luminosidad de los octavos impregnados se incrementó, respecto al día del procesamiento, exhibiendo valores similares a los de los octavos frescos cortados. La cromaticidad y tonalidad también se incrementaron (15 y 4%, respectivamente), indicando una intensificación en el tono amarillo y de la vivacidad del color. No ocurrieron cambios en el pH ni en el contenido de sólidos solubles, respecto al día del procesamiento, mientras que se incrementaron los parámetros de textura (entre 17 y 21%) y los contenidos de fenoles totales, narirutina y hesperidina (entre 10 y 26 %).

El procedimiento de optimización con respuestas múltiples, permitió encontrar las condiciones de proceso óptimas para los gajos de mandarina (16 inHg y 24 min). Para ello, se planteó un escenario buscando minimizar la pérdida de agua y maximizar el contenido de sólidos solubles y de vitamina C, durante el tratamiento de IV, así como minimizar el incremento de firmeza, durante el almacenamiento. En el caso de los octavos de naranja, el escenario planteado buscó minimizar la pérdida de agua y reducción de peso, maximizar la ganancia de sólidos, el contenido de sólidos solubles y de fenoles totales, así como mantener la firmeza inicial de la fruta fresca, en el día 0. Dando como resultado una presión idéntica de vacío, pero por un tiempo más corto (22 min). Los ensayos de validación, realizados bajo estas condiciones óptimas de proceso para cada fruta, mostraron, en general, acuerdo entre los valores experimentales obtenidos y los predichos por los modelos para las respuestas estudiadas, lo que da mayor fortaleza estadística a la metodología utilizada y los modelos obtenidos.

La calidad microbiológica en las condiciones óptimas, de los gajos de mandarina y octavos de naranja impregnados, era satisfactoria tanto en el día del tratamiento como luego del almacenamiento refrigerado.

De acuerdo con el análisis sensorial descriptivo (ADC), los gajos de mandarina y octavos de naranja impregnados en las condiciones óptimas, eran más dulces, con olor y sabor a miel en comparación con los gajos y octavos sin impregnar, respectivamente. El olor y sabor típico (característico de fruta cítrica) disminuyó en ambas frutas, después de la IV con miel, probablemente porque fue reemplazado por el olor y sabor de esta. Pero, la textura, jugosidad y el color típico (de fruta fresca) se mantuvieron. Los gajos de mandarina impregnados eran significativamente más brillantes que los gajos sin impregnar. Después de 8 días en almacenamiento refrigerado, ambas frutas impregnadas mantenían el brillo, textura, jugosidad, dulzor, olor y sabor típico similar al percibido después del tratamiento de IV, en el día 0. El color típico (de naranja fresca) disminuyó en los octavos de naranja impregnada, mientras que en los gajos de mandarina no mostró cambios perceptibles. En detrimento, el olor y sabor a miel disminuyeron significativamente en ambas frutas. Sin embargo, no se generaron olores ni sabores extraños.

Finalmente, los resultados obtenidos demostraron que es posible obtener un producto mínimamente procesado con agregado de miel mediante la tecnología de IV que tiene un gran potencial para la comercialización de un producto diferenciado. Se lograron mandarinas y naranjas mínimamente procesadas con características de color y textura similares o mejores que el fruto fresco, con mayor contenido en sólidos solubles, sin pérdidas considerables en el potencial bioactivo. Adicionalmente, los productos tuvieron buena retención del contenido vitamínico, incluso un leve incremento en los compuestos fenólicos, después de 8 días de almacenamiento refrigerado.

6.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C. y Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International journal of food microbiology*, 123(1-2), 121-129.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
- Agostini, J. D. S., Scalon, S. D. P. Q., Silva, K. E. D., Lima, F. F. D., Gomes, A. P. E. y Leite, M. M. (2013). Physicochemical and microbiological characteristics of minimally processed 'Champagne' oranges (*Citrus reticulata* × *Citrus sinensis*) in different packgings. *Food Science and Technology*, 33(1), 84-92.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013005000018>
- Akbulut, M., Ozcan, M. y Çoklar, H. (2009). Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60(7), 577–589.
<https://doi.org/10.3109/09637480801892486>
- Alegría, C., Pinheiro, J., Duthoit, M., Gonçalves, E. M., Moldão-Martins, M. y Abreu, M. (2012). Fresh-cut carrot (cv. *Nantes*) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *LWT- Food Science and Technology*, 48(2), 197-203.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.03.013>
- Álvarez-Suárez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. y Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15-23.
<https://doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6>
- Ancillo, G., Medina, A. (2014). *Monografías botánicas: los cítricos*. Universidad de Valencia. ISBN 978-84-370-9553-0
- Anderson, C. M., Banfi, G., Beñatena, H., Casafus, C. M., Costa, N. B., Danos, E., Fabiani, A., Garran, S. M., Larocca, L., Marco, G., Messina, M., Mika, R., Mousques, J., Plata, M. I., Ragone, M., Rivas, R., Vaccaro, N. C. y Vazquez, Daniel. (1996). Los cítricos. En A. Fabiani., R. Mika., L. Larocca. y C. Anderson (Eds), *Manual para productores de naranja y mandarina de la región del río Uruguay* (págs. 1-6). Argentina: Secretaría de Agricultura, Pesca y Alimentación.

- AOAC (1990). Helrick, K. (Ed.), *Official methods de analysis of the association of official analytical chemists*. (15th Ed. P. 1230.) USA: Arlington.
- Artés, F., Gómez, P. A. y Artés-Hernández, F. (2009). *Pérdida de calidad y su control en productos hortofrutícolas mínimamente procesados en fresco (MPF)*. En Aspectos nutricionales y sensoriales de vegetales frescos cortados, Ed. By González, G. A., Álvarez, P. E., De la Rosa, L., Olivas, I. G. y Ayala, J. F. pp 19-43. Editorial Trillas, México.
- Ashitha, G. N. y Prince, M. V. (2018). Vacuum Impregnation: Applications in Food Industry. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 8(2), 141-151.
<https://doi.org/10.30954/2277-9396.02.2018.3>
- Barrera, C., Betoret, N., Corell, P. y Fito, P. (2009). Effect of osmotic dehydration on the stabilization of calcium-fortified apple slices (var. Granny Smith): Influence of operating variables on process kinetics and compositional changes, *Journal of food engineering*, 92(4), 416-424.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.034>
- Barrios, S., De Aceredo, A., Chao, G., De Armas, V., Ares, G., Martín, A., Soubes, M. y Lema, P. (2014). Passive modified atmosphere packaging extends shelf life of enzymatically and vacuum-peeled ready-to-eat Valencia orange segments, *Journal of Food Quality*, 37(2), 135-147.
<https://doi.org/10.1111/jfq.12074>
- Bello, F. (2015). *Estudio de la calidad de naranjas y mandarinas mínimamente procesadas. Influencia de variables del proceso* [Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia]. <http://hdl.handle.net/10251/59412>
- Cano, A., Medina, A. y Bermejo, A. (2008). Bioactive compounds in different citrus varieties. Discrimination among cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(5), 377-381.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.03.005>
- Cauch Kumul, R., Ruiz Ruiz, J. C., Ortíz Vázquez, E. y Segura Campos, M. R. (2015). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. *Nutrición Hospitalaria*, 32(4), 1432-1442. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9312>

- Cebadera Miranda, L. (2017). *Valoración nutricional, compuestos bioactivos y actividad antioxidante de cítricos: clementinas y naranjas pigmentadas* [Memoria doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. <https://eprints.ucm.es/45998/1/T39491.pdf>
- Cháfer, M., Pérez, S. y Chiralt, A. (2003). Kinetics of solute gain and water loss during osmotic dehydration of orange slices. *Food science and technology international*, 9(6), 389-396. <https://doi.org/10.1177/1082013203040545>
- Cháfer, M., Perez, S., Vargas, M. y Chiralt, A. (2008). Stability and quality of minimally processed orange slices. *Journal of food processing and preservation*, 32(2), 319-334. doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00181.x
- Ciappini, M. C., Stoppani, F. S., Martinet, R. y Alvarez, M. B. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (19), 45-51. <http://www.scielo.org.ar/pdf/recyt/n19/n19a07.pdf>
- CNA (2018). *Censo Nacional Agropecuario 2018: resultados definitivos* (1ª ed). Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadística y Censos-INDEC (2021). <https://cna2018.indec.gob.ar/assets/cna-resultados-definitivos.pdf>
- Contreras-Oliva, A., Pérez-Gago, M. B., Salvador, A., Bermejo, A. y Rojas-Argudo, C. (2012). Calidad fisicoquímica, sensorial y nutricional de naranjas CV. Valencia recubiertas con quitosano. *Agrociencia*, 46(5), 441-453.
- 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). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81357541002>
- Cortez-Latorre, J. D., Faicán, M., Pirovani, M. y Piagentini, A. (2021). Improving fresh-cut apple quality and healthy potential-related attributes through mild vacuum impregnation process. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, e15995. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15995>

- Dávila, M, R. M., Cortés R, M. y Gil G, J. H. (2016). Cambios físicos y fisicoquímicos durante el almacenamiento en plátano impregnado al vacío con soluciones antioxidantes. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 14(2), 125-134.
[http://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)125-134](http://doi.org/10.18684/BSAA(14)125-134)
- de la Rosa-Hernández, M., Wong-Paz, J. E., Muñiz-Márquez, D. B., Carrillo-Inungaray, M. L. y Sánchez-González, J. M. (2016). Compuestos fenólicos bioactivos de la toronja (*Citrus paradisi*) y su importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 47(2), 22-35.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956610003>
- Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V. y Agabbio, M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1), 99-105.
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00180-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00180-8)
- Derossi, A., De Pilli, T. y Severini, C. (2010). Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. *Journal of Food Engineering*, 99(1), 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.019>
- Derringer, G. y Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of quality technology*, 12(4), 214-219.
<https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>
- Ergun, M. y Ergun, N. (2009). Maintaining quality of minimally processed pomegranate arils by honey treatments, *British Food Journal*, 111(4), 396-406. <http://dx.doi.org/10.1108/00070700910951524>
- FDA (2018). Bacteriological Analytical Manual (BAM). Recuperado el 15 de octubre, 2021, from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
- FECIER (2021). *Federación del citrus de Entre Ríos*. Calendario de cosecha. <https://www.fecier.org.ar/fecier/23/calendario-de-cosechas.html> Acceso: febrero 2022
- FEDERCITRUS (2018). *Federación Argentina del Citrus*. La actividad cítrica argentina. <https://www.federcitrus.org/estadisticas/> Acceso: mayo 2020

- Fito, P. (1994). Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*, 22, 313-328. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85861-037-5.50022-9>
- Fito, P. y Pastor, R. (1994). Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 513-519. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90070-1](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90070-1)
- Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A. y Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-Relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27, 229-240. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(95\)00005-4](https://doi.org/10.1016/0260-8774(95)00005-4)
- Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., Andrés, A. y Vidal, D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2-3), 175-183. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00220-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00220-X)
- Francis, G. A., Gallone, A., Nychas, G. J., Sofos, J. N., Colelli, G., Amodio, M. L. y Spano, G. (2012). Factors affecting quality and safety of fresh-cut produce. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(7), 595-610. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.503685>
- García-Tenesaca, M., Navarrete, E. S., Iturralde, G. A., Villacrés Granda, I. M., Tejera, E., Beltrán-Ayala, P., et al. (2018). Influence of botanical origin and chemical composition on the protective effect against oxidative damage and the capacity to reduce in vitro bacterial biofilms of monofloral honeys from the andean region of Ecuador. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 45. <https://doi.org/10.3390/ijms19010045>
- Gardner, P. T., White, T. A., McPhail, D. B. y Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food chemistry*, 68(4), 471-474.
- Goldenberg, L., Yaniv, Y., Kaplunov, T., Doron-Faigenboim, A., Carmi, N. y Porat, R. (2015). Diversity in sensory quality and determining factors influencing mandarin flavor liking. *Journal of Food Science*, 80(2), S418–S425. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12742>

- Gómez, C. A. (2014). *Comportamiento del fruto de mandarina (Citrus reticulata L.) var. Arrayana bajo el efecto de diferentes tecnologías poscosecha* (Tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia). bdigital.unal.edu.co/45632/
- Goulas, V. y Manganaris, G. A. (2012). Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*, *131*(1), 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.007>
- Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., Yasuda, K., Mori, M. y Tsuda, S. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food chemistry*, *127*(3), 1114-1118. <https://doi.org/10.1016/j.-foodchem.2011.01.111>
- Hodges, D. M. y Toivonen, P. M. (2008). Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biology and Technology*, *48*(2), 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.016>
- Hough, G., y Witting, E. (2005). Introducción al análisis sensorial. En G. Hough, y S. Fiszman (Ed.), *Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos* (pp. 13-16). Madrid: CYTED.
- Iglesias, D. J., Cercós, M., Colmenero-Flores, J. M., Naranjo, M. A., Ríos, G., Carrera, E., Ruiz-Rivero, O., Lliso, I., Morillo, R., Tadeo, F. R. y Talon, M. (2007). Physiology of citrus fruiting. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *19*(4), 333-362. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202007000400006>
- Jeon, M. y Zhao, Y. (2005). Honey in combination with vacuum impregnation to prevent enzymatic browning of fresh-cut apples. *International journal of food sciences and nutrition*, *56*(3), 165-176.
- Jideani, A. I., Anyasi, T. A., Mchau, G. R., Udoro, E. O. y Onipe, O. O. (2017). Processing and preservation of fresh-cut fruit and vegetable products. *Postharvest Handling*, *3*, 47-73. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69763>
- Karacay, E. y Ayhan, Z. (2010). Microbial, physical, chemical and sensory qualities of minimally processed and modified atmosphere packaged “ready to eat” orange segments. *International Journal of Food Properties*, *13*(5), 960-971. <https://doi.org/10.1080/10942910902927110>

- Khan, M. K., Zill-E-Huma. y Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 85-104. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.004>
- Kucner, A., Klewicki, R. y Sójka, M. (2013). The influence of selected osmotic dehydration and pretreatment parameters on dry matter and polyphenol content in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2031-2047. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0997-0>
- Lin, D. S., Leonard, S. W., Lederer, C., Traber, M. G. y Zhao, Y. (2006). Retention of fortified vitamin E and sensory quality of fresh-cut pears by vacuum impregnation with honey. *Journal of food science*, 71(7), 553-559. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00133.x>
- Martínez-Alcántara, B., Tadeo, F., Mesejo, C., Martínez-Cuenca, M. R., Ruiz, M., Reig, C., Forner-Giner, M. A., Iglesias, D. J., Talón, T., Agusti, M. y Primo-Millo. (2015). *Anatomía de los Cítricos*. Primo-Millo, E. y Agusti, M. (Eds) pp. 173. <http://hdl.handle.net/10251/61019>
- Martínez-Monzó, J., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. y Fito, P. (1998). Mechanical and structural changes in apple (var. *Granny Smith*) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*, 63(3), 499-503. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15772.x>
- Micheloud, N. y Pilatti, R. (2014). Cítricos. En: N. F. Gariglio., C. Bouzo. M. R. Travadelo (eds.), *Cultivos frutales y ornamentales para zonas templado-cálidas* (pp. 25-49). Experiencias en la zona central de Santa Fe. Santa Fe, Argentina. Ediciones UNL.
- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2009). Tendencias en el procesado mínimo de frutas y hortalizas frescas. *Horticultura internacional*, 69, 48-51. http://www.horticom.com/revistasonline/extras/extra09/48_51.pdf
- Mújica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E. y Welti-Chanes, J. (2003). Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of Food Engineering* 57(4), 305-314. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00344-8](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00344-8)

- Neri, L., Di Biase, L., Sacchetti, G., Di Mattia, C., Santarelli, V., Mastrocola, D. y Pittia, P. (2016). Use of vacuum impregnation for the production of high quality fresh-like apple products. *Journal of Food Engineering*, 179, 98-108. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.02.002>
- Odrizola-Serrano, I., Hernández-Jover, T. y Martín-Belloso, O. (2007). Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*, 105(3), 1151-1158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.-2007.02.037>
- Orduz-Rodríguez, J. O. y Mateus, C. D. M. (2012). *Generalidades de los cítricos y recomendaciones agronómicas para su cultivo en Colombia*. In: Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización. Garcés, G. L. F., Pássaro C (eds.). (7-48). Editorial Artes y Letras, Colombia. <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/452/1/citricos.pdf>
- Ostos, S. L., Díaz, A. C. y Suarez, H. (2012). Evaluación de diferentes condiciones de proceso en la fortificación de mango (Tommy Atkins) con calcio mediante impregnación a vacío. *Revista chilena de nutrición*, 39(2), 181-190. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000200007>
- Paes, S. S., Stringari, G. B. y Laurindo, J. B. (2007). Effect of vacuum and relaxation periods and solution concentration on the osmotic dehydration of apples. *International journal of food science y technology*, 42(4), 441-447. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01255.x>
- 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. <https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1262304>
- Pinheiro, A. L., Jacomino, A. P., Arruda, M. C. D., Ribeiro, R. V., Kluge, R. A. y Trevisan, M. J. (2009). Descascamento de laranja'Pêra'em função da duração do tratamento hidrotérmico. *Ciência Rural*, 39(6), 1857-1863. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000600034>.
- Pirovani, M. E., Güemes, D. R. y Piagentini, A. M. (2006). *Vegetales frescos cortados: Procesamiento y calidad*. Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.

- Pirovani, M., Piagentini, A.M. y Van de Velde, F. (2015). *Chapter 2: Bioactive compounds in fresh-cut fruits: occurrence and impact of processing and cold storage*. In: *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications in Foods and Pharmaceuticals*. Edited by Vijai Kumar Gupta, Maria G. Tuohy, Anthonia O'Donovan and Mohtashim Lohani. John Wiley y Sons- (Reino Unido). ISBN: 9781118733493, 37-62, pp 736.
- Plaza, L., Crespo, I., de Pascual-Teresa, S., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Muñoz, M. y Cano, M. P. (2011). Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124(2), 646-651. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.089>
- Plaza, L., Sánchez-Moreno, C., Elez-Martínez, P., De Ancos, B., Marín-Belloso, O. y Cano, M. P. (2006). Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *European Food Research and Technology*, 223(4), 487–493. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0228-2>
- Prakash Maran, J. y Manikandan, S. (2012). Response surface modeling https and optimization of process parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit. *Dyes and Pigments*, 95(3), 465-472. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.06.007>
- Pretel, M. T., Fernández, P. S., Romojaro, F. y Martinez, A. (1998). The effect of modified atmosphere packaging on 'ready-to-eat' oranges. *LWT-Food Science and Technology*, 31(4), 322-328. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0363>
- Quintanilla, A., Mencía, A., Powers, J., Rasco, B., Tang, J. y Sablani, S. S. (2018). Vacuum impregnation of firming agents in red raspberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10), 3706-3714. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8878>
- Radziejewska-Kubzdela, E., Biegańska-Marecik, R. y Kidoń, M. (2014). Applicability of vacuum impregnation to modify physico-chemical, sensory and nutritive characteristics of plant origin products—a review. *International journal of molecular sciences*, 15(9), 16577-16610. <https://doi.org/10.3390/ijms150916577>

- Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E. y Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7), 2088-2099. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.056>
- Rangel-Marrón, M. y López-Malo, A. (2012). Cambios en frutas tropicales frescas, cortadas y empacadas en atmósfera modificada durante su almacenamiento en refrigeración. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(2), 94-109.
- Rapisarda, P., Bianco, M. L., Pannuzzo, P. y Timpanaro, N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest biology and technology*, 49(3), 348-354. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.002>
- Rapisarda, P., Caggia, C., Lanza, C. M., Bellomo, S. E., Pannuzzo, P. y Restuccia, C. (2006). Physicochemical, microbiological, and sensory evaluation of minimally processed tarocco clone oranges packaged with 3 different permeability films. *Journal of food science*, 71(3), S299-S306. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15657.x>
- Robles-Sánchez, R. M., Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Astiazarán-García, H., González-Aguilar, G. y Cruz-Valenzuela, R. (2007). Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia*, 32(4), 227-232. www.redalyc.org/pdf/339/33932403.pdf
- Röbke, C., Brunton, N., Gormley, T. R. y Butler, F. (2011). Quality and antioxidant capacity of fresh-cut apple wedges enriched with honey by vacuum impregnation. *International journal of food science and technology*, 46(3), 626-634. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02526.x>
- Salinas-Hernández, R. M., González-Aguilar, G. A., Pirovani, M. E. y Ulín-Montejo, F. (2007). Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia*, 23(2), 183-196. <https://www.redalyc.org/pdf/154/15423209.pdf>

- Salvatori, D., Andres, A., Chiralt, A. y Fito, P. (1998). The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering*, 21(1), 59-73. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1998.tb00439.x>
- Samborska, K., Jedlińska, A., Wiktor, A., Derewiaka, D., Wołosiak, R., Matwijczuk, A., Jamróz, W., Skwarczyńska-Maj, K. Kielczewski, D. Błazowski, Ł., Tułodziecki, M, y Witrowa-Rajchert, D. (2019). The effect of low-temperature spray drying with dehumidified air on phenolic compounds, antioxidant activity, and aroma compounds of rapeseed honey powders. *Food and Bioprocess Technology*, 12(6), 919-932. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02260-8>
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B. y Cano, M. P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 430–439. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1392>
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5(21), 5990-5999. <https://doi.org/10.1039/C3AY41125G>
- Shen, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D. y Ye, X. (2013). Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.006>
- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tadeo, F., Moya, J. L., Iglesias, D., Talón, M. y Primo-Millo, E. (2003). *Histología y citología de cítricos*. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. Generalitat Valenciana. Valencia, España. pp 63. I.S.B.N.: 84-482-3436-7

- Tapia de Daza, M. S., Alzamora, S. M., Chanes, J. W. y Gould, G. (1996). Combination of preservation factors applied to minimal processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(6), 629-659. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399609527742>
- Tibola, C. S., Zaicovski, C. B., Malgarim, M. B., Ferri, V. C., Ferrareze, J. P., Silva, P. R. y Pegoraro, C. (2006). Qualidade e conservação de tangerina minimamente processada. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 28(2), 193-197. <https://www.redalyc.org/pdf/3030/303026569013.pdf>
- Tournas, V. H., Heeres, J. y Burgess, L. (2006). Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. *Food microbiology*, 23(7), 684-688. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.01.003>
- Van de Velde, F., Güemes, D. R. y Pirovani, M. É. (2014). Optimization of the peracetic acid washing disinfection of fresh-cut strawberries based on microbial load reduction and bioactive compounds retention. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 634-640. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12346>
- Van de Velde, F., Güemes, D. R., Piagentini, A. M. y Pirovani, M. E. (2013). Health potential and physicochemical attributes after minimal processing and during refrigerated storage of orange (*Citrus sinensis L., Osbeck*). *International Journal of Fruit Science*, 13, 285-298. <http://dx.doi.org/10.1080/15538362.2012.679197>
- Van de Velde, F., Pirovani, M. E., Cámara, M. S., Güemes, D. R. y Bernardi, C. M. D. H. (2012). Optimization and Validation of a UV-HPLC Method for Vitamin C Determination in Strawberries (*Fragaria ananassa Duch.*), Using Experimental Designs. *Food Analytical Methods*, 5, 1097-1104. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9347-5>
- Verma, V. C. (2017). Vacuum impregnation: Emerging technology for osmotic dehydration and value addition in fruits and vegetables products. *Journal of Postharvest Technology*, 5(4), 01-09. <http://jpht.info/index.php/jpht/article/viewFile/20357/9890>. www.redalyc.org/pdf/579/57956610003.pdf
- Xie, J. y Zhao, Y. (2003). Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. *International journal of food sciences and nutrition*, 54(5), 387-398. <https://doi.org/10.1080/09637480310001595261>

- Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y. y Shi, J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food chemistry*, *106*(2), 545-551.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.046>
- Zhao, X. J., Chen, D., Kilmartin, P. A. y Jiao, B. N. (2019). Simultaneous Determination of Phenolics and Polymethoxylated Flavones in Citrus Fruits by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled with Triple-Quadrupole Mass Spectrometry (UHPLC-QqQ-MS). *Analytical Letters*, *52*(12), 1926-1938.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2019.1584628>
- Zhao, Y. y Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in food science y technology*, *15*(9), 434-451. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.01.008>.