



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**ACTIVIDAD DE LA PEROXIDASA E ÍNDICE DE OSCURECIMIENTO EN  
LECHUGA ROMANA (*Lactuca Sativa*) ENVASADA EN ATMÓSFERA  
MODIFICADA ACTIVA.**

## **T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

**SUNAY ANGUELY RAMOS VALLADOLID**

ASESORA: DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA

CO-ASESORA: M. EN C. ARACELI ULLOA SAAVEDRA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO DE MÉXICO

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

**Actividad de la peroxidasa e índice de oscurecimiento en lechuga romana (Lactuca Sativa) envasada en atmósfera modificada activa**

Que presenta la pasante: **Sunay Anguely Ramos Valladolid**  
Con número de cuenta: **409490152** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de septiembre de 2013.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
<b>VOCAL</b>	Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza	
<b>SECRETARIO</b>	IA. Miriam Álvarez Velasco	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dr. Enrique Martínez Manrique	
<b>2do. SUPLENTE</b>	IA. Ricardo Moisés González Reza	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## *DEDICATORIA*

*Este trabajo de investigación está dedicado a mi familia: A mi madre Iris Valladolid, mi padre Guillermo Ramos, mi hermana Consuelo y mi hermano Diego, que pese a todos los obstáculos me han brindado las herramientas para que pueda hoy cumplir uno de mis más grandes sueños.*

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por brindarme la fuerza para no rendirme y haber concluido este trabajo de investigación.

A mi **mamá Iris**, por ser amiga, compañera y el pilar de mi vida, gracias por siempre apoyarme en cada decisión y hacer de mí la persona que soy. Eres lo que más amo en la vida, este logro es también tuyo.

A mi **hermana Consuelo**, por ser el mejor ejemplo de dedicación y esfuerzo porque sin tu apoyo no habría podido culminar esta etapa.

A la **Dra. Luz Zambrano**, gracias por compartir sus conocimientos conmigo, por su paciencia y por confiar en mí en los momentos más difíciles tiene Ud. toda mi admiración, respeto y cariño.

A los **Şinodales** por su tiempo y aportaciones en la revisión de este trabajo.

A mis compañeros del **Taller de Procesos y Şistemas Frigoríficos**, por su apoyo, consejos, ánimo y sobre todo su amistad incondicional.

Al Ing. Arturo López Román, por su disposición, consejos y amistad. Muchas gracias por apoyarme en la obtención de las películas plásticas utilizadas en la experimentación.

Al Ing. Carlos López González de la División de Gases Especiales de INFRA S. A. de C. V. por las facilidades en el empleo de los gases para el envasado del producto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y a la vez a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por haber contribuido a mi formación profesional como Ingeniero en Alimentos.

**ÍNDICE**

	<b>Página</b>
RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	ii
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES</b>	
1.1 Lechuga	1
1.1.1 Clasificación	3
1.1.2 Tipos de Lechuga	4
1.1.3 Valor Nutritivo	6
1.1.4 Mercado de Lechuga en México	7
1.2 Aspectos Post-Cosecha	8
1.2.1 Aspectos Estructurales	8
1.2.2 Aspectos Hídricos	9
1.2.3 Aspectos Metabólicos	9
1.2.4 Enfermedades Post-cosecha	14
1.3 Productos Frescos-cortados (IV Gama)	16
1.3.1 Factores que Afectan la Calidad de las Hortalizas de IV Gama	18
1.3.2 Operaciones de Preparación de Productos de IV Gama	20
1.4 Conservación de Lechuga en Atmósfera Modificada	23
1.4.1 Principio de la Atmósfera Modificada	23
1.4.2 Efecto del envasado	26
1.4.3 Ventajas y Desventajas del envasado en Atmósfera Modificada	28
1.4.4 Películas plásticas como material de envase	30
1.5 Enzimas de Oxidación	34

## ÍNDICE

---

1.5.1 Peroxidasa	36
1.5.2 Efecto de las Reacciones Enzimáticas en el Color y Textura	40
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
2.1 Objetivo General	45
2.1.1 Objetivos Particulares	45
2.2 Justificación de Variables	46
2.3 Materiales	47
2.3.1 Reactivos	47
2.3.2 Material Biológico	47
2.3.3 Material de Envase	49
2.4 Métodos	49
2.4.1 Acondicionamiento del Equipo Frigorífico	50
2.4.2 Actividad Respiratoria	49
2.4.3 Envasado en Atmósfera Modificada	51
2.4.4 Cambios en la Concentración de gases durante el Almacenamiento	55
2.4.5 Determinación del Color	55
2.4.6 Medición de la Textura	57
2.4.7 Determinación de la Actividad de la Peroxidasa	59
2.4.8 Análisis Estadístico	60
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
3.1 Acondicionamiento del Equipo Frigorífico	61
3.2 Actividad Respiratoria	62
3.3 Cambios en la Concentración de Gases Durante el Almacenamiento	65
3.4 Determinación de los Cambios de Color	70



## ÍNDICE

---

3.4.1 Luminosidad	73
3.4.2 Ángulo Hue	75
3.4.3 Croma	75
3.4.4 Índice de Oscurecimiento	77
3.5 Medición de la Textura	80
3.5.1 Ensayo de Punción	81
3.5.1 Ensayo de Tensión	88
3.6 Determinación de la Actividad Enzimática de la Peroxidasa	92
<b>CONCLUSIONES</b>	99
<b>RECOMENDACIONES</b>	101
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	102

**ÍNDICE DE FIGURAS**

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Lechuga Iceberg ( <i>Lactuca Sativa</i> var. <i>Capitata</i> )	1
Figura 2 Morfología de la Lechuga	2
Figura 3 Principales tipos de lechuga A-Iceberg B-Romana C-Leaf D-Butterhead	6
Figura 4 Producción de lechuga y achicoria	8
Figura 5 Proceso general de elaboración de ensalada de IV Gama	21
Figura 6 Cambios en las concentraciones de gases durante la conservación en atmósferas activas y pasivas	26
Figura 7 Caminos alternativos para el oscurecimiento enzimático en frutas y hortalizas	36
Figura 8 Mecanismo de reacción catalizada por la peroxidasa, utilizando guayacol como sustrato	38
Figura 9 Reacciones oxidativas involucradas en la polimerización de la lignina	40
Figura 10 Punción de una hoja de lechuga	43
Figura 11 Geometría de una muestra de ensayo de tracción	44
Figura 12 Materia prima utilizada en el desarrollo experimental	48
Figura 13 Marcas comerciales de lechugas de IV Gama	48
Figura 14 Método del sistema cerrado para la determinación de la velocidad de respiración en lechuga	50
Figura 15 Adaptación de material para medir transpiración	51
Figura 16 Diagrama de proceso del envasado de lechuga en MAP	52
Figura 17 Manipulación y selección de las lechugas para envasar A) Recepción B) Primera selección C) Lavado y desinfección D) Segunda selección E) Centrifugación F) Tercera selección	54
Figura 18 Lechugas envasadas en atmósfera modificada	54
Figura 19 Adaptación del escenario oscuro para la medición del color	56

## ÍNDICE

---

Figura 20	Texturómetro de Brookfield® CT3 realizando de prueba de punción	57
Figura 21	Geometría utilizada en las pruebas texturales A) Punción B) Tensión	58
Figura 22	Texturómetro de Brookfield® CT3 realizando de prueba de tensión	58
Figura 23	Preparación del extracto enzimático	59
Figura 24	Espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis	60
Figura 25	Registro de temperatura y humedad relativa	61
Figura 26	Velocidad de respiración por el método estático	63
Figura 27	Cambios en la concentración de O <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub> para bolsas de 50g	66
Figura 28	Cambios en la concentración de O <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub> para bolsas de 75g	68
Figura 29	Cambios en la concentración de O <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub> para bolsas de 100g	69
Figura 30	Evolución de las muestras de lechuga durante el tiempo de almacenamiento	72
Figura 31	Cambio de luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 50g	73
Figura 32	Cambio de luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 75g	74
Figura 33	Cambio de luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 100g	75
Figura 34	Efectos principales para el ángulo Hue	76
Figura 35	Índice de oscurecimiento para las muestras de lechuga	78
Figura 36	Cambios en el índice de oscurecimiento con respecto al tiempo	80
Figura 37	Dureza (N) de las muestras de lechuga	82
Figura 38	Interacciones tratamiento-peso de bolsa en la dureza	83
Figura 39	Cambios de la dureza durante el almacenamiento	85
Figura 40	Deformación según dureza (%) de las muestras de lechuga	87
Figura 41	Carga máxima o resistencia a la tensión según el pico de carga	89
Figura 42	Interacción peso-tratamiento en el pico de carga	90
Figura 43	Interacción peso-tratamiento en la deformación según pico de	91

## ÍNDICE

---

	carga	
Figura 44	Deformación según pico de fuerza (mm) en el ensayo de tensión	91
Figura 45	Gráfica obtenida de la lectura espectrofotométrica al día 9 de almacenamiento de una muestra control en bolsa de 75g	92
Figura 46	Cambios en la actividad peroxidasa en función al contenido de bolsa	93
Figura 47	Cambios en la actividad POD en bolsas de 50, 75 y 100g	95
Figura 48	Actividad POD de lechuga Iceberg en atmósfera modificada durante 11 días	97

**ÍNDICE DE TABLAS**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 Clasificación de las hortalizas de acuerdo a la parte comestible de la planta	3
Tabla 2 Clasificación de hortalizas de acuerdo al clima	3
Tabla 3 Composición nutricional de la lechuga Iceberg/Crisphead	7
Tabla 4 Principales fisiopatías Post cosecha de lechuga	15
Tabla 5 Gama de productos alimenticios	17
Tabla 6 Principales características de los polímeros más utilizados	31
Tabla 7 Características principales de la peroxidasa	37
Tabla 8 Valores medios del contenido en compuestos fenólicos de hortalizas seleccionadas ( $\mu\text{mol}$ por 100 g de porción comestible)	41
Tabla 9 Factores y niveles de variación	46
Tabla 10 Mezcla de gases en el envasado de lechuga	51
Tabla 11 Concentraciones de gases registradas en la respiración de la lechuga romana	62
Tabla 12 Velocidad de transmisión del $\text{CO}_2$ para lechuga romana	63
Tabla 13 Velocidad de transpiración de lechuga romana	65

### NOMENCLATURA

<b>Abs</b>	Absorbancia
<b>a*, b*</b>	Coordenadas cromáticas
<b>AC</b>	Atmósfera controlada
<b>ACC</b>	1-aminociclopropano-1-carboxilato
<b>C*</b>	Croma o Intensidad de color
<b>HR</b>	Humedad relativa (%)
<b>h<sub>ab</sub>*</b>	Ángulo Hue
<b>IFPA</b>	<i>"International Fresh-cut Produce Association"</i> Asociación Internacional de productos Frescos-cortados
<b>IO</b>	Índice de oscurecimiento
<b>L*</b>	Coordenada de cromática (luminosidad)
<b>(O<sub>2</sub>)(CO<sub>2</sub>)(N<sub>2</sub>)</b>	Concentración de gases (%)
<b>MAP</b>	<i>"Modified Atmosphere Packaging"</i> Envasado en Atmósfera Modificada
<b>PAL</b>	<i>"Phenylalanine ammonia lyase"</i> Fenilalanina amonio liasa
<b>POD</b>	<i>"Peroxidase"</i> Peroxidasa
<b>PPO</b>	<i>"Polyfenoloxidase"</i> Polifenoloxidasa
<b>TTO</b>	Tasa de transmisión de oxígeno
<b>U</b>	Unidades de actividad enzimática

### RESUMEN

Las atmósferas modificadas como tecnología de conservación para productos hortofrutícolas frescos con un procesamiento mínimo se utiliza ampliamente para aumentar la vida útil de algunos productos, sin tener que renunciar a las características atractivas de los envases tradicionales y las propiedades de los alimentos en su estado fresco. El objetivo del siguiente trabajo fue el evaluar la actividad de la enzima peroxidasa, el índice de oscurecimiento, la actividad respiratoria y textura de la lechuga romana (*Lactuca sativa*), envasada en atmósfera modificada activa y almacenadas en refrigeración durante 11 días. Las muestras de lechuga se sometieron a diferentes concentraciones de gases ( $O_2$  y  $CO_2$ ) y se variaron las capacidades del envase resultando porciones individuales de 50 g, 75 g y 100 g, las cuales fueron envasadas en películas plásticas de poliolefinas CRYOVAC® de alta permeabilidad a gases y vapor de agua. La determinación de la actividad enzimática se realizó mediante espectrofotometría de absorbancia en relación con el tiempo; así mismo se determinó el color en donde se midieron las coordenadas de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , para cada tratamiento con el que se obtuvo el índice de oscurecimiento, el cual se relaciona con la mayor actividad enzimática en las lechugas analizadas. La medición de la textura se realizó por medio de dos pruebas: tensión y punción las cuales muestran la pérdida de turgencia debido a las reacciones metabólicas y degradación del tejido celular. Las muestras de lechuga envasadas con una atmósfera en composición de gases (3 %  $O_2$  y 2 %  $CO_2$ ) mostraron mejores resultados que las demás mezclas de gases y el control, esto debido a que se formó con mayor velocidad una atmósfera en equilibrio lo que aumentó la vida útil del producto.

# INTRODUCCIÓN

En la actualidad se ha originado una nueva demanda de productos alimenticios por parte de los consumidores, que muestran una creciente preferencia por los alimentos que conserven su frescura llamados también mínimamente procesados o de IV gamma, además de que posean el sabor y la calidad característicos de un producto fresco. Los alimentos mínimamente procesados son aquellas hortalizas y frutas frescas, limpias, peladas enteras y/o cortadas de diferentes maneras, cuyo mínimo procesamiento permite mantener sus propiedades naturales y tornarlas fáciles de utilizar por el consumidor ya sea para consumo directo crudo o para preparaciones culinarias, que se presenten envasadas al vacío o en atmósferas modificadas con o sin utilización de gases. Son productos frescos listos para el consumo y conservados en refrigeración (4°C) que necesitan una distribución y exposición adecuada (Hernández & Sastre-Gallego, 1999).

El propósito de los alimentos mínimamente procesados es proporcionar al consumidor un producto frutícola u hortícola muy parecido al fresco, con una vida útil prolongada y al mismo tiempo garantizar la seguridad de los mismos manteniendo una sólida calidad nutritiva y sensorial (Wiley, 1997). Ante esta necesidad se han desarrollado nuevas tecnologías de conservación para alimentos mínimamente procesados como las frutas y hortalizas frescas conocido como envasado en atmósferas modificadas. Esta técnica consiste en la conservación de frutas y hortalizas ya sean enteras y/o cortadas, bajo películas plásticas con una permeabilidad definida y su funcionamiento se basa en el cambio de condiciones gaseosas iniciales del entorno inmediato del producto como consecuencia de su metabolismo y barrera semipermeable que supone el embalaje (Zapata, 1996). El principio del envasado bajo atmósferas modificadas (MAP) consiste en crear un ambiente con baja concentración de O<sub>2</sub> y alta de CO<sub>2</sub>, dentro del envase (Wolti-Chanes y col., 2005). Una vez creada la atmósfera modificada, la velocidad con que cambia dependerá de varios factores, no siendo



el menos importante la relación existente entre el volumen de producto y el interno del propio envase, la permeabilidad a los gases del material usado para el envase y la tasa respiratoria de las hortalizas (Arthey y col., 1992). Las hortalizas frescas por definición siguen respirando, es decir, toman oxígeno y desprenden dióxido de carbono y vapor de agua (Arthey y col., 1992).

La lechuga romana (*Lactuca sativa*), es una de las hortalizas de mayor comercialización como producto de IV gamma y principal componente de ensaladas. La lechuga es más frágil y presenta una gran sensibilidad al oscurecimiento (Tirilly & Bourgeois, 2001). Sin embargo, bajas temperaturas de almacenamiento producen desórdenes fisiológicos en tejidos, modifican la fase climatérica y afectan la madurez de los frutos (Thompson, 2003). Se han realizado diversas investigaciones donde se ha evaluado que la lechuga ligeramente procesada puede beneficiarse de una atmósfera baja en oxígeno y alta en anhídrido carbónico para prevenir el oscurecimiento (Davis y col., 2002). Otro factor de importancia en la conservación bajo atmósferas modificadas de lechuga es la actividad enzimática que presentan, debido a la peroxidasa, las cuales están presentes en las paredes celulares de casi todos los vegetales. La mayoría de los oscurecimientos que aparecen de forma rápida son debidos a la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos por la acción de las polifenoloxidasas o de las peroxidadas (Tirilly & Bourgeois, 2001).

La vida útil de la lechuga mínimamente procesada se limita por las reacciones de oscurecimiento enzimático, este oscurecimiento está mediado por la PPO endógena y las actividades de la POD; el cual es un problema importante en la industria alimentaria y es una de las principales causas de la pérdida de calidad durante manejo post cosecha (Altunkaya & Gökmen, 2011). Las oxidorreductasas son responsables de las reacciones de oxidación enzimática (oscurecimiento) que contribuyen a los cambios de textura, color, sabor y calidad nutricional de materias primas y alimentos procesados (Burnette, 1977).

## **INTRODUCCIÓN**

---

Por lo antes mencionado, el presente trabajo se basará en el estudio de las atmósferas modificadas en la conservación de lechuga romana propuesta en tres diferentes contenidos de producto por bolsa, para su consumo como porciones individuales. Para lo cual se llevará a cabo la determinación de los cambios de color, textura y actividad enzimática de las muestras con diferentes concentraciones de gases para establecer el más favorable para este tipo de envasado.

## CAPÍTULO I

### ANTECEDENTES

#### 1.1 LECHUGA

La lechuga es una planta anual y autógama, perteneciente a la familia *Compositae* y género *Lactuca*. Este género incluye aproximadamente 100 especies diferentes. La lechuga fue una de las primeras hortalizas cultivadas por el hombre. Es originaria de la costa sur del Mediterráneo, habiendo sido domesticada probablemente en Egipto. La domesticación fue hecha en la fase vegetativa y no en la reproductiva, lo cual explica la gran variedad existente. Después del proceso de domesticación se dispersó rápidamente por el Mediterráneo y posteriormente a Europa Occidental (Vallejo & Estrada, 2004).



**Figura 1.** Lechuga Iceberg- *Lactuca Sativa* var. *Capitata* (INFOAGRO, 2008).

Esta hortaliza es una de las más importantes y su popularidad ha aumentado en forma progresiva, en el mundo por tratarse de un producto de consumo natural, de sabor agradable y bajo contenido calórico, el producto comercial de la lechuga son las hojas inmaduras o maduras que se consumen en forma de ensalada.

## ANTECEDENTES

---

La lechuga cuenta con la siguiente morfología (INFOAGRO, 2008):

- Raíz: la raíz, que no llega nunca a sobrepasar los 25 cm de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones.
- Hojas: las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. El borde de los limbos pueden ser liso, ondulado o aserrado.
- Tallo: es cilíndrico y ramificado.
- Inflorescencia: son capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos.
- Semillas: están provistas de un vilano plumoso.



**Figura 2.** Morfología de la lechuga.

Las lechugas se recolectan cuando alcanzan la madurez exigida por el mercado, la lechuga Iceberg (romana) desarrolla un cogollo sólido en 60-120 días, dependiendo de la estación del año, cuando alcanza su madurez la lechuga se corta a mano y se empaqueta de diversos modos; uno de ellos es cubriéndolas de una película plástica o colocándolas en cajas de cartón para poder transportarlas alguna cadena de supermercado o un intermediario para su venta (Bofelli & Sirtori, 2007). Dado a que es un producto perecedero debe ser refrigerada hasta que alcance el punto de venta al por menor.

### 1.1.1 Clasificación

Las hortalizas proceden de diversas partes de las plantas, se muestran algunos ejemplos de su clasificación en base a la parte comestible de la planta.

**Tabla 1.** Clasificación de las hortalizas de acuerdo a la parte comestible de la planta.

Hortalizas de hoja o tallo	Hortalizas de fruto	Hortalizas leguminosas verdes	Hortalizas de raíces, bulbos y tuberosas	Otras hortalizas
Alcachofa Espárrago Puerros Lechuga Espinaca	Cantalupos y otros melones Berenjenas Calabazas Sandía Chayote	Habas Guisantes	Zanahorias Rábanos Nabos Apio Cebolla	Coliflor Maíz dulce

(Fuente: Gómez y col., 1991)

En función a los requerimientos climatológicos se puede clasificar a las hortalizas de clima frío y clima cálido, como se presenta a continuación:

**Tabla 2.** Clasificación de hortalizas de acuerdo al clima.

Hortalizas de clima frío	Hortalizas de clima cálido
Amarilidáceas (cebolla, ajo)	Leguminosas (chícharo, jícama, haba)
Umbelíferas (zanahoria, apio, perejil)	Solanáceas (chile, tomate, papa)
Quenopodiáceas (betabel, acelga)	Gramíneas (maíz dulce)
Crucíferas (brócoli, coliflor)	Eutorbiáceas (yuca)
Liliáceas (espárragos)	Malvácea (ocra)
Compuestas (lechuga, alcachofa)	Convolvulácea (verdolaga)
	Portulácea (camote)
	Curcubitácea (calabacita, sandía)
	Labiadas (orégano, hierbabuena)

(Fuente: Gómez y col., 1991)

De acuerdo al clima y a la parte comestible de la planta, podemos clasificar a la lechuga como una hortaliza de hoja de clima frío, perteneciente a la familia de las *Asteráceas*, del género *Lactuca* y especie *Sativa* (NMX-FF-051-1982).

### 1.1.2 Tipos de lechuga

Se puede diferenciar cuatro principales tipos de lechugas entre las cuales se encuentran Crisphead (principalmente Iceberg), Romana (cos), Leaf y Butterhead. Las cuales varían en tamaño, forma, textura, color, valor nutritivo y gusto, según lo reportado por Bofelli & Sirtori (2007) son las siguientes:

- *Crisphead (Acogollada de hojas crujientes)*

Es el principal tipo de lechuga que se caracteriza por su forma acogollada que pesan alrededor de un kilo, con hojas exteriores intactas, y de los que se elimina la mayoría de dichas hojas exteriores, aproximadamente tres cuartas partes. Las hojas son más anchas que largas. Las hojas exteriores son de color verde oscuro, con tinte brillante o sin brillo. (Bofelli & Sirtori, 2007). Las hojas interiores son de color blanco o amarillo cremoso, se tiene como principal referencia de este tipo de lechuga, a la lechuga iceberg. En México es conocida comúnmente como lechuga “romana” aunque ésta pertenezca a otra denominación en EUA y Europa.

- *Romana*

La lechuga romana o “cos” forma cogollos largos con forma de pan que están cerrados en la parte superior o relativamente abiertos. Las hojas son más largas que anchas y espatuladas. Las hojas exteriores son de color verde oscuro y las hojas interiores suelen ser de color amarillento, los cogollos pesan aproximadamente 0.7 Kg. El gusto es más dulce y fuerte que el de los tipos “crisphead”.

- *Leaf (Sin acogollar)*

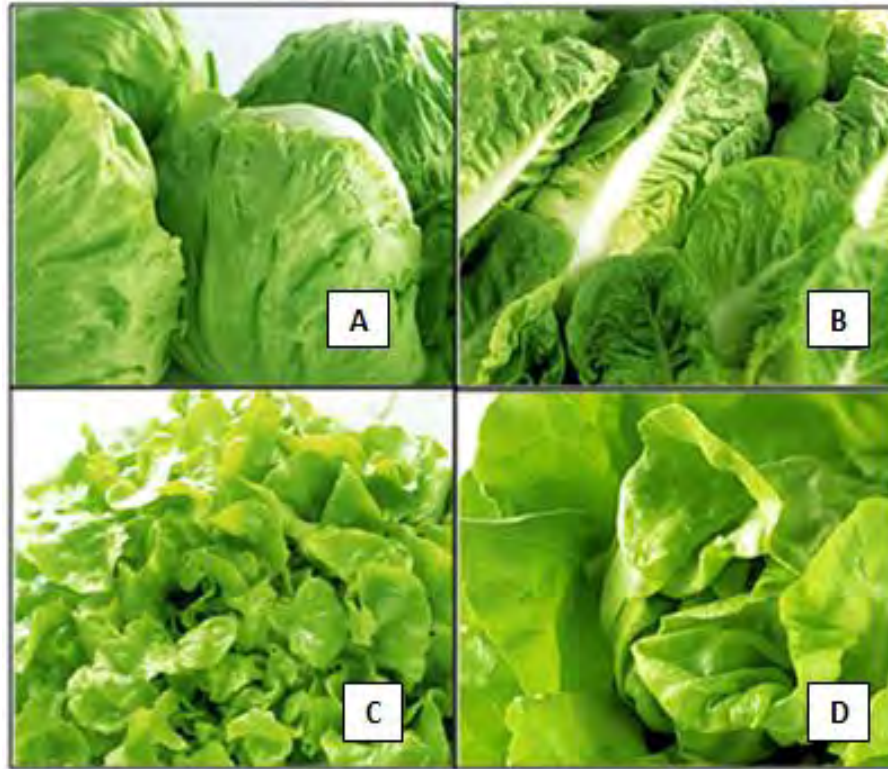
Las lechugas “leaf” aparecen en una gran variedad de tamaños y formas, tienen en común la formación de un ramo de hojas que pueden ser anchas o largas; redondas, espatuladas o lobuladas; con flecos o suavemente marginadas; de color verde oscuro o pálido; y con o sin color rojo. Las lechugas “leaf” pesan hasta 0.5 Kg con todas las hojas intactas. Debido a su crecimiento más abierto, este tipo de lechugas tiene menos hojas descoloridas que los de tipo “crisphead”. Esto le proporciona un sabor más fuerte y un contenido más alto en vitaminas y minerales.

- *Butterhead (Acogolladas de hojas mantecosas)*

Distinguida principalmente por su textura suave y grasienta, la lechuga “butterhead” forma cogollos que son considerablemente más pequeños que la de la lechuga “crisphead”. Pesa hasta 0.5 Kg con todas las hojas intactas, las cuales son plegadas, más anchas que largas y arrugadas en el interior. Son de color verde pálido a oscuro por fuera y amarillo en la parte interior, este tipo de lechugas incluye a los tipos “Boston” y los más pequeños “Bibb”.

- *Otros tipos*

Otros tipos de lechuga son la lechuga Latín, con similitud con la romana y a la “butterhead”, la lechuga Batavia que es un tipo “crisp” más suave y pequeño cultivado principalmente en Francia; y la lechuga de tallo, que se cultiva en China y Egipto por su tallo comestible. La lechuga más exótica es el de tipo semillas oleaginosas, es un tipo primitivo y parcialmente cultivado, que se desarrolla rápidamente y se produce grandes semillas que se prensan para obtener aceite.



**Figura 3.** Principales tipos de lechuga A-Iceberg, B-Romana, C-Leaf, D-Butterhead. Fuente: ELO®.

### 1.1.3 Valor nutritivo

Aunque la lechuga es una fuente moderadamente buena de algunas vitaminas y minerales existe una gran variación entre los tipos de lechuga. La lechuga romana tiene la menor cantidad de vitaminas porque la mayor parte de la porción comestible de la lechuga incluye las hojas interiores, que no están expuestas a la luz y por tanto son algo descoloridas. Otros tipos de lechuga tienen una proporción más elevada de hojas verdes y, por tanto, son mejores fuentes de vitaminas. Los constituyentes principales son las vitaminas A, C y el calcio (Bofelli & Sirtori, 2007).



La lechuga es una hortaliza pobre en calorías, aunque las hojas exteriores son más ricas en vitamina C que las interiores. En la Tabla 3 se muestran los datos de la composición interpretados por 100 g de la porción comestible.

**Tabla 3.** Composición nutricional de la lechuga Crisphead/Iceberg.

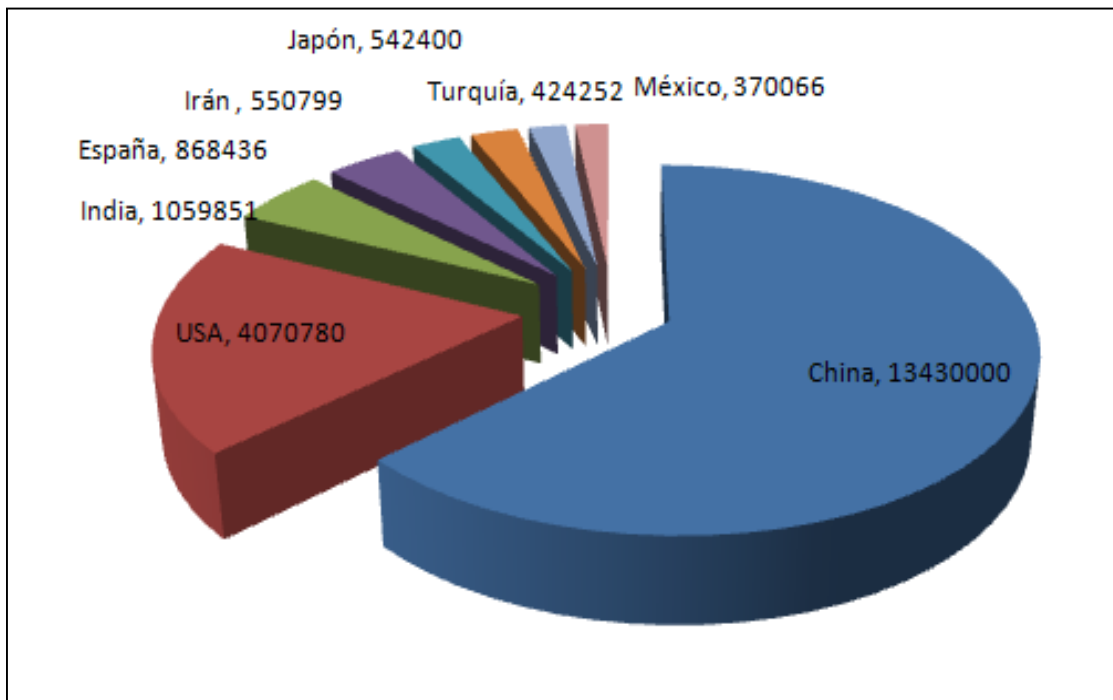
Componente	Cantidad
Calorías (Kcal)	18
Agua (g)	94
Carbohidratos (g)	3.50
Fibra (g)	1.90
Proteínas (g)	1.30
Grasas (g)	0.30
Cenizas (g)	0.90
Calcio (mg)	68
Fósforo (mg)	25
Vitamina C (mg)	18
Hierro (mg)	1.40

(Fuente: USDA, 2011)

#### **1.1.4 Mercado de lechuga en México**

El consumo per cápita de lechuga en México se elevó de 1.8 a 2.5 kilogramos durante el periodo 1994-2002, este ascenso aunado al aumento de la población ha derivado en un alto ritmo de crecimiento de la demanda para el producto. Así, el consumo nacional de lechuga se incrementó en el mismo periodo de 161,871 a 254,261 toneladas métricas, lo que representa una tasa de crecimiento de 5.8 % anual (Bobadilla y col., 2010). La importancia del cultivo de la lechuga ha ido incrementándose en los últimos años, debido tanto a la diversificación de sus variedades como al aumento de la necesidad de productos de cuarta gama.

En la Figura 4 se muestra que México ocupa el octavo lugar en producción de lechuga a nivel mundial, registrando 370 066 toneladas producidas en el 2011. La producción de lechuga se desarrolla en 25 estados de la República, teniendo como principales estados productores a: Puebla, Guanajuato, Estado de México, Aguascalientes, Baja California, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas (FAOSTAT, 2011).



**Figura 4.** Producción en toneladas de lechuga y achicoria (FAOSTAT, 2011).

## 1.2 FISIOLÓGÍA POSTCOSECHA

### 1.2.1 Aspectos Estructurales

Un órgano vegetal está constituido por células estructuradas que se agrupan en tejidos, éstos tejidos tienen funciones y propiedades específicas además que tienen cambios constantes después de ser recolectados.

- *La célula vegetal y la membrana celular*

En la célula vegetal es donde se llevan a cabo innumerables reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas, mantiene numerosos intercambios con las células vecinas y con el medio exterior: cambios de agua, sustancias diversas y gases. Por lo tanto su funcionamiento es sumamente complejo y está sometido a regulaciones precisas en las que participan múltiples factores, en especial la temperatura (Tirilly & Bourgeois, 2001).

Las membranas celulares están constituidas por lípidos y proteínas. Los lípidos organizados en una bicapa continua, son esencialmente fosfolípidos y galactolípidos cuyas cabezas polares están colocadas hacia el exterior y las cadenas de ácidos grasos están orientadas hacia el interior de la membrana. Las proteínas forman masas globulares incluidas en la matriz lipídica o superficiales, muchas de las cuales son enzimas. Las membranas juegan un papel determinante en el funcionamiento de las células ya que a través de ellas se realizan los cambios entre estos compartimientos y son el asiento de diversas actividades enzimáticas, toda alteración de su integridad estructural o funcional corre el riesgo de ser peligrosa para la célula (Tirilly & Bourgeois, 2001).

- *La atmósfera interna*

La atmósfera interna interviene de forma importante en la supervivencia de los órganos vegetales después de su recolección, ya que está constituida por una mezcla de gases de diferente composición a la de la atmósfera del aire. Mediante la respiración se establecen cambios entre la célula, la atmósfera interna y entre esta última y la atmósfera exterior (Tirilly & Bourgeois, 2001).

Estos cambios se realizan mediante dos formas: la difusión libre que tiende a igualar las concentraciones de gases entre la atmósfera interna y el aire ambiental y la permeación que es un proceso de difusión de los gases en estado disuelto a través de las células (Tirilly & Bourgeois, 2001). Los gases metabólicos aprovechan una u otra de estas vías según su coeficiente de solubilidad. El CO<sub>2</sub> al

ser 30 veces más soluble en agua que el oxígeno circula fácilmente por difusión libre y permeación, mientras que el oxígeno circula todo por la vía de los poros.

### **1.2.2 Aspectos hídricos**

Los vegetales están formados por células que están repletas de agua en su vacuola, esta fuerte turgencia es la que le da la firmeza y aspecto de frescura; sin embargo, tienden a deshidratarse dependiendo de las condiciones a las que se someta (temperatura y humedad relativa). Una excesiva deshidratación provoca el marchitamiento y pérdida de masa del alimento, lo cual se resume en la aceleración de la senescencia por efecto de la síntesis de etileno. La pérdida máxima de agua tolerada es de 3 a 5 % en lechugas (Tirilly & Bourgeois, 2001).

### **1.2.3 Aspectos metabólicos**

- *Respiración*

La respiración es un proceso donde los organismos vivos convierten la materia en energía, es uno de los procesos básicos de la vida y de todas las frutas y hortalizas frescas. Sin embargo, existen diversos factores que relacionan a la respiración con el manejo, transporte y almacenamiento de éstos alimentos. En las plantas en general, la respiración principalmente comprende la oxidación enzimática de azúcares a CO<sub>2</sub> y agua, acompañado de la liberación de energía, la respiración es básicamente la operación inversa de la fotosíntesis por la que la energía luminosa procedente del sol, se almacena en energía química principalmente en carbohidratos constituidos por glucosa (Montero, 2002).

Se trata de un proceso de oxidación completa y progresiva de la glucosa bajo la forma de glucosa 6-fosfato. Esta última proviene de la hidrólisis de moléculas más complejas que constituyen las reservas de las células, su degradación pone en juego una serie de mecanismo localizados en el citoplasma (glucólisis) o en la mitocondria (ciclo de Krebs). Al final del proceso, es necesaria la presencia de oxígeno para asegurar el funcionamiento de la cadena de oxidaciones

respiratorias y dar agua, una parte de la energía producida se pierde en forma de calor, llamado calor respiratorio; éste calor aumenta la temperatura del órgano vegetal y puede llegar a ser un inconveniente para la conservación en frío (Tirilly & Bourgeois, 2001).

Generalmente hablando, la intensidad de respiración se valora con la rapidez con la que se producen los cambios químicos en el material vegetal, y por lo tanto indica la vida útil potencial de la hortaliza. La intensidad de respiración se define como la cantidad de CO<sub>2</sub> producido por unidad de peso del producto en una unidad de tiempo (Montero, 2002). La intensidad de respiración tiene una gran importancia, porque ésta determina la cantidad de oxígeno que debe ser administrada por unidad de tiempo y la cantidad de CO<sub>2</sub> y de calor que se libera al mismo tiempo, además de ser indicador de la velocidad con que se llevan a cabo reacciones como la conversión de almidón a azúcares, las pérdidas de vitaminas y el deterioro en general del vegetal (Montero, 2002).

- *Transpiración*

Las frutas y hortalizas frescas se componen principalmente de agua (80% o más) y en la etapa de crecimiento tienen un abastecimiento abundante de agua a través del sistema radicular de la planta. Con la cosecha, éste abastecimiento de agua se corta y el producto debe sobrevivir de sus propias reservas. Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado continúa perdiendo agua hacia la atmósfera, tal como lo hacía antes de la cosecha, por un proceso conocido como transpiración. La atmósfera interna de frutas y hortalizas está saturada con vapor de agua, pero a la misma temperatura el aire circundante está menos saturado. Existe pues un gradiente a lo largo del cual el vapor de agua se mueve desde el producto al aire que lo rodea. Una esponja mojada pierde agua hacia la atmósfera de la misma forma (FAO, 1987).

El efecto neto de la transpiración es una pérdida de agua del producto cosechado, que no puede ser reemplazada. La velocidad con la que ésta se pierde será un

factor determinante en la vida de post cosecha del producto. La pérdida de agua causa una disminución significativa del peso y a medida que avanza, disminuye la apariencia y elasticidad del producto perdiendo su turgencia, es decir, se vuelve blando y marchito (FAO, 1987).

- *Síntesis de etileno*

La producción de etileno es otra de las actividades metabólicas que ocurre después de la recolección del vegetal, este compuesto gaseoso es producido en pequeña cantidad por las células, sale de los espacios intercelulares y se difunde al exterior de los órganos. Todos los órganos vegetales vivos son capaces, en distinto grado de producir etileno, a veces en cantidades muy pequeñas pero suficientes para producir daños fisiológicos graves (Tirilly & Bourgeois, 2001).

Las principales enzimas que participan en la producción de etileno son la ACC sintetasa y la ACC oxidasa; la conversión del ACC en etileno requiere obligatoriamente oxígeno; en anoxia (ausencia completa de oxígeno), la síntesis del etileno es imposible pero se acumula ACC que da lugar a un aumento de la producción de este gas cuando los órganos se vuelven a poner en contacto con el aire. Con frío, todas las enzimas son menos activas, pero el descenso de la temperatura disminuye más la actividad de la ACC oxidasa que la de la ACC sintetasa. Se produce una menor síntesis de etileno pero se acumula ACC que es el origen de una importante producción de este gas cuando los órganos se vuelven a colocar a temperatura ambiente (Tirilly & Bourgeois, 2001). En la lechuga la tasa de producción de etileno es muy baja con un valor menor de  $0.1\mu\text{L}/\text{Kg}\cdot\text{h}$  a  $20^{\circ}\text{C}$  (FAO, 2006) y aunque es producida en baja cantidad es sumamente sensible a él, una de las principales alteraciones específicas del etileno en lechuga son las quemaduras en las hojas.

El etileno acelera los procesos naturales de desarrollo, maduración y senescencia, promueve la destrucción de la clorofila, cambios de textura y en el flavor siendo perjudicial en la calidad de la lechuga. Se desconoce el umbral de concentración

de etileno que acelera la senescencia de la mayoría de las hortalizas de hoja, aunque suele citarse en un nivel de 0.1 a 0.005 microlitros de etileno por litro de atmósfera. Pero en la práctica esto significa la inexistencia de concentraciones inocuas de etileno y por tanto, toda reducción de las concentraciones de etileno extenderá en algún grado la vida útil post cosecha de los producto (Mónaco y Col., 2005)

- *Oxidación de los compuestos fenólicos*

Todos los oscurecimientos en las hortalizas, cualquiera que sea su localización resultan de la oxidación de los compuestos fenólicos que aparecen por traumatismo de origen mecánico, patológico o fisiológico. Las células vegetales contienen compuestos fenólicos que, en presencia de oxígeno, se oxidan fácilmente a quinonas por la acción de enzimas polifenoloxidasas y peroxidasas. Las quinonas a su vez se oxidan, sin intervención de enzimas particulares y se polimerizan dando compuestos cafés oscuros que son los responsables del oscurecimiento superficial o profundo que aparece en circunstancias diversas (Tirilly & Bourgeois, 2001).

En células sanas los compuestos fenólicos se disuelven en las vacuolas mientras que las enzimas de oxidación se localizan en el citoplasma. La membrana que separa la vacuola del citoplasma impide cualquier contacto entre las enzimas y sus sustratos; por tanto no tiene lugar la oxidación de estos últimos. En cambio cuando se lesionan las células con motivo de un corte, de una contusión o de un ataque microbiológico, todos sus constituyentes se encuentran mezclados, produciéndose por la presencia de oxígeno la oxidación de los compuestos fenólicos desarrollándose el oscurecimiento enzimático del tejido. Toda alteración celular que conduce a una modificación de la permeabilidad de las membranas tiene también el riesgo de traducirse en oscurecimiento como sucede en ciertas enfermedades fisiológicas (Tirilly & Bourgeois, 2001).

### 1.2.4 Enfermedades Post-cosecha




Después de la cosecha todos los cultivos de lechuga requieren de un preenfriamiento rápido (1.1 °C), lo más pronto posible y almacenarse a una temperatura de 1.1-2.2 °C con una humedad relativa entre el 98 y 100 %. La mayoría de las lechugas son comercializadas rápidamente y puede que no sea necesario el almacenamiento en atmósferas controladas. Sin embargo, las atmósferas del almacenamiento son modificadas para prolongar la vida de almacenamiento. Cuando la lechuga se almacena en atmósferas modificadas que contienen menos del 1 % de O<sub>2</sub> ó mas de 2.5 % de CO<sub>2</sub>, pueden aparecer daños. La lechuga mínimamente procesada puede beneficiarse de una atmósfera baja en oxígeno y alta en anhídrido carbónico para prevenir el oscurecimiento (Bofelli & Sirtori, 2007).

La exposición a elevados niveles de CO<sub>2</sub> causa oscurecimiento, incrementándose cuando la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmósfera que rodea la lechuga aumenta del 1 al 5 % las concentraciones de O<sub>2</sub> disminuyen del 21 al 1 % y la duración del almacenamiento aumenta (Bofelli & Sirtori, 2007). El tiempo de almacenamiento y la vida comercial están influenciadas por el cultivo, madurez y prácticas culturales, el estrés experimentado en el campo y daños causados durante la recolección, manejo y transporte.

Algunas de las principales fisiopatías post cosecha de lechuga se muestran en la Tabla 4, este tipo de desórdenes son producto de un mal manejo en las condiciones de almacenamiento y exposición a elevadas y/o bajas concentraciones de gases (O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>) que no son favorables para su conservación, así como las recomendaciones para su control cuando son tratadas con un procesamiento mínimo.



**Tabla 4.** Principales fisiopatías Post-cosecha de lechuga.

FISIOPATÍA	DESCRIPCIÓN	SÍNTOMAS	AGENTE CAUSAL	CONTROL	EJEMPLO
Mancha parda ( <i>Brown stain</i> )	Este tipo de desorden es frecuente en lechugas de tipo "Crisphead", el uso de atmósferas controladas y modificadas agrava el problema.	El nervio central es exento de clorofila en la base de las hojas de lechuga es el tejido más susceptible.	La exposición a elevados niveles de CO <sub>2</sub> causa la mancha parda, la gravedad incrementa cuando esta concentración es mayor al 2 %.	Mantener la concentración de CO <sub>2</sub> por debajo del 2 % y de O <sub>2</sub> por encima del 10.	
Nervio rosado ( <i>Pink Rib</i> )	Esta fisiopatía es un desorden post cosecha de la lechuga acogollada tipo "Crisphead" y puede desarrollarse en lechugas mínimamente procesadas.	Afecta al tejido del nervio central exento de clorofila en la base de las hojas exteriores del cogollo.	Se presenta en su mayoría en lechugas sobremaduradas y los niveles bajos de O <sub>2</sub> y altas temperaturas lo acentúan.	Disminución de la respiración y buena circulación de aire para evitar la reducción de O <sub>2</sub> y acumulación de CO <sub>2</sub>	
Punteado rojizo ( <i>Russet Spotting</i> )	Este desorden es propio de la lechuga Crisphead y Romana.	Se presenta en el nervio central, se caracteriza por lesiones pardas, ligeramente hundidas y ovals (2x4 mm), es una infección seca.	La exposición al etileno con temperaturas de almacenamiento alrededor de 5 °C.	Atmósferas libres de etileno y temperaturas de 1.1 y 2.2 °C.	

(Fuente: Adaptado de Boffelli & Sirtori, 2007)

### 1.3 PRODUCTOS FRESCOS CORTADOS (IV GAMA)

En función del grado de procesamiento de los alimentos, éstos se suelen catalogar en productos de primera, segunda, tercera, cuarta o quinta gama su clasificación y algunos ejemplos se muestran en la Tabla 5.

Las frutas y verduras frescas cortadas son un segmento relativamente nuevo y en vías de desarrollo rápido de la industria de productos frescos. La Asociación Internacional de Productos Frescos Cortados (IFPA), define como producto fresco cortado a “cualquier fruta u hortaliza o la combinación de éstas que han sido alteradas físicamente pero que permanecen en un estado fresco”, también se les conoce como productos de IV gama (Lobo y González, 2003).

Los productos frescos cortados han sido recién cortados, lavados, envasados y se mantienen en refrigeración; se encuentran en un estado natural y, aunque mínimamente procesados, permanecen en estado fresco listo para comer o cocinar (Lamikanra, 2002). Adicionalmente se utilizan también otras técnicas para prolongar su vida útil (atmósferas modificadas, disminución del pH, recubrimientos superficiales, irradiaciones, adición de conservadores, etc.) la principal ventaja de estos productos es la comodidad y el ahorro de tiempo, ya que en la mayoría de éstos casos están listos para ser consumidos o utilizados en la elaboración de diversos platos (Rodríguez & Simón, 2008). Sin embargo, el daño físico y las lesiones causadas por la manipulación incrementan la respiración y la producción de etileno en pocos minutos, con incrementos asociados de otras reacciones bioquímicas responsables de cambios en color (oscurecimiento), sabor, textura y calidad nutricional (contenido de azúcares y vitaminas) (Sáenz & Berger, 2006).

**Tabla 5.** Gama de productos alimenticios.

<p><b>Gama I</b></p>	<p>Productos frescos, no procesados tecnológicamente, productos conservados mediante métodos tradicionales como la deshidratación, salazón y la fermentación.</p>	
<p><b>Gama II</b></p>	<p>Conservas alimenticias: alimentos envasados en recipientes cerrados y sometidos a esterilización comercial.</p>	
<p><b>Gama III</b></p>	<p>Productos congelados. Son los alimentos conservados por frío, es decir, por congelación o ultracongelación</p>	
<p><b>Gama IV</b></p>	<p>Productos de origen hortofrutícola que han sido acondicionados en envases bajo vacío o atmósferas modificadas, requiriendo ser conservados a una temperatura de 0 a 4 °C.</p>	
<p><b>Gama V</b></p>	<p>Alimentos que han recibido un tratamiento térmico completado, a veces con la cadena de frío como platos cocinados bajo vacío o en atmósferas modificadas</p>	

(Fuente: Montero, 2004)

El incremento de la demanda de oxígeno debido a las mayores tasas de respiración, implica la necesidad de películas plásticas de suficiente permeabilidad al oxígeno para prevenir la fermentación y malos olores. La selección de la película plástica como material de envasado implica un logro entre la demanda de oxígeno (consumo de oxígeno por respiración) y la permeabilidad de la película al oxígeno y al bióxido de carbono, las cuales son seleccionadas en base a la tasa de transmisión de oxígeno. En la selección de la película de envasado es necesario considerar varios factores inherentes al producto: la tasa de respiración del alimento (cortado), la cantidad de producto y las concentraciones de equilibrio de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> deseables. Las características de la película plástica que se necesita considerar incluyen: 1) la permeabilidad al O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y al vapor de agua así como el espesor de la película; 2) el área superficial total de envase sellado; 3) el volumen libre dentro del envase (Sáenz & Berger, 2006).

### **1.3.1 Factores que afectan la calidad de hortalizas en IV Gama**

- *Temperatura*

Los productos en IV Gama tienen una actividad respiratoria mayor que los correspondientes productos enteros, esto significa que cuanto mayor es el grado de procesamiento, mayor es su tasa respiratoria. La lechuga fresca cortada tiene una tasa respiratoria entre un 20 y un 40 % mayor que las cabezas intactas (Lobo & González, 2003), lo que indica un metabolismo más activo y por lo general, una tasa de deterioro más acelerada. Para minimizar las elevadas tasas de respiración se requiere de la conservación en frío con un estricto control de la temperatura, que en general para los alimentos mínimamente procesados se deben almacenar dentro del rango de 0-5 °C (Sáenz & Berger, 2006). Una atención especial merece la selección de la temperatura de conservación en productos sensibles a los daños por frío, este tipo de productos no soportan una conservación por debajo de los 10°C sin desarrollar desórdenes fisiológicos.

- *Modificación de la atmósfera*

Después de la reducción de la temperatura del producto, el uso de atmósfera controlada (AC) o envasado bajo atmósfera modificada (MAP), se considera el segundo método más efectivo para prolongar la comercialización de los productos de IV Gama.

Aunque la utilización del MAP puede representar un coadyuvante en la conservación de muchas frutas y hortalizas, se debe tener cuidado con los niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> alcanzados. Si la concentración de O<sub>2</sub> cae por debajo del punto de extinción (PE) o punto de compensación anaeróbica (PCA) la atmósfera modificada podría tener efectos indeseables debido a la respiración anaeróbica. El PE o PCA es el nivel de O<sub>2</sub> crítico en que la producción de CO<sub>2</sub> es mínima; para las hortalizas este valor se encuentra entre el 1 y 3 %. Los productos frescos cortados pueden tolerar niveles más extremos de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> que los enteros ya que no poseen cutícula o piel que dificulte la difusión gaseosa, y la distancia desde el centro al exterior del producto es mucho menor que el producto entero (Lobo & González, 2003).

- *Humedad relativa*

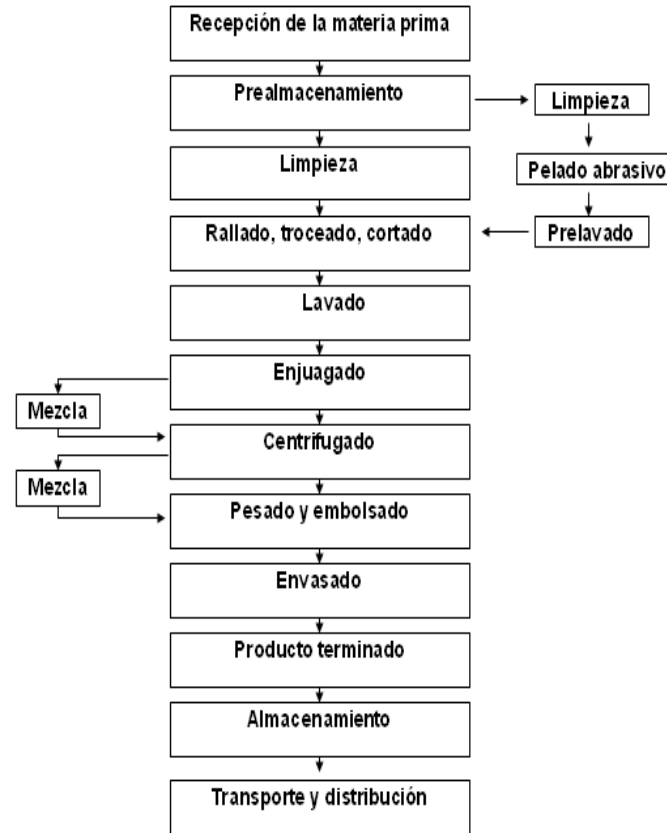
Uno de los principales problemas que se refleja de forma física en las hortalizas de IV Gama es su acelerada pérdida de agua. Existe un margen limitado para la modificación de la estructura del tejido para reducir la tasa de pérdida de agua. Por lo tanto, los métodos de control de la tasa de pérdida de agua, implican principalmente la reducción de la capacidad del aire circundante para mantener el agua adicional al reducir la temperatura o aumentando la humedad, es decir, mediante la reducción de la diferencia de presión de vapor entre el producto y el aire, o proporcionar una barrera a la pérdida de agua.

Wills y col., (1989) citan los siguientes métodos para controlar la pérdida de agua en productos de IV Gama:

- El aumento de la humedad: un método efectivo para reducir la pérdida de agua de las frutas y hortalizas es aumentar la humedad relativa del aire. Esto reduce la diferencia de presión de vapor entre el producto y el aire y por tanto la cantidad de agua requerida para evaporar los productos antes de que el aire esté saturado con vapor de agua.
- El movimiento del aire: es un factor importante que influye en la tasa de pérdida de humedad, el movimiento de aire es necesario para eliminar el calor de los productos, el movimiento del aire tiende a barrer el aire húmedo de alrededor del producto, aumentando el índice de aire que reduce el espesor de la capa límite, el cual aumenta la diferencia de presión de vapor cerca de la superficie y así aumenta la tasa de pérdida de humedad. Cuanto más rápido se mueve el aire a través de la superficie de las frutas y hortalizas, mayor es la tasa de pérdida de agua del producto.
- Envasado: la pérdida de agua se puede reducir mediante la colocación de una barrera física alrededor del producto para reducir el movimiento del aire a través de la superficie. El grado en que la tasa de pérdida de agua es reducida depende de la permeabilidad del paquete para la transferencia de vapor de agua.

### **1.3.2 Operaciones de Preparación de Productos de IV Gama**

En el proceso de elaboración de alimentos vegetales frescos cortados, se deben tomar en cuenta las operaciones que se realizan al manipular y preparar el producto, ya que esto se verá reflejado en la calidad y vida útil del producto.



**Figura 5.** Proceso general de elaboración de ensalada de IV Gama (Lobo & González, 2003).

### Cortado y troceado

En las operaciones de preparación de los alimentos vegetales, el proceso de corte o troceado destaca en importancia debido al papel que juega en la fisiología de la hortaliza, los productos recién cortados son mucho más perecederos que los vegetales intactos ya que son sometidos a un “stress” físico, consecuencia del corte (Lobo & González, 2003). El deterioro de la membrana resulta de la ruptura de la estructura celular, perdiendo así su función celular normal; varios eventos secundarios se sufren a consecuencia del deterioro de la membrana, el más comúnmente conocido es el oscurecimiento del tejido, otro es el desarrollo de malos olores. La ruptura del tejido vegetal puede traducirse relativamente en el deterioro rápido de la membrana (Lamikanra, 2002).

Como consecuencia del corte, los productos frescos cortados sufren una serie de alteraciones de origen bioquímico (al romper la estructura celular hace posible el contacto entre ciertas enzimas con sus correspondientes sustratos) y microbiológico; éste último producido por la acumulación de agua perdida del alimentos al momento del corte.

### **Limpieza, lavado y secado**

Las hortalizas que provienen de cultivos cercanos al suelo, pueden llegar con restos de tierra por lo cual deben ser lavadas cuidadosamente antes de procesarlas, un segundo lavado debe ser realizado antes de la operación de pelado y/o corte de los productos. La calidad microbiológica y sensorial del agua empleada debe ser buena y su temperatura baja, preferiblemente por debajo de los 5 °C. La cantidad recomendada de agua a emplear es 5-10 L/Kg de producto antes de cortar y de 3 L/Kg después de cortar (Lobo & González, 2003).

El empleo de agentes químicos como cloro, ácido cítrico, etc., son añadidos al agua del lavado, con el fin de reducir la carga microbiológica y retardar las actividades enzimáticas y por lo tanto mejorar la calidad sensorial y vida útil de los productos. Behrsing y col. (2000) reportan que para lechuga como producto de IV Gama es recomendable utilizar como agente sanitizante hipoclorito de sodio en dosis de 100 mg/L en un tiempo máximo de 5 minutos, con agua de lavado a una temperatura de 4 °C para la inactivación de E. Coli 0157:H7: 2.2-2.4 log. Después del lavado se recomienda eliminar el agua de lavado del producto por medio de una centrifugación, el tiempo y velocidad en que se lleve a cabo esta operación debe ser muy cuidadosa ya que sólo se debe retirar el exceso de agua y no dañar de manera física el tejido del alimento.



## 1.4 CONSERVACIÓN DE LECHUGA EN ATMÓSFERAS MODIFICADAS

### 1.4.1 Principio de la atmósfera modificada (MAP)

Esta técnica es utilizada en la conservación de frutas y hortalizas, su fundamento se basa en el cambio de las condiciones gaseosas iniciales del entorno inmediato del producto como consecuencia de su metabolismo y la barrera semipermeable que supone el envase (Zapata, 1996).

Consiste en crear un microambiente alrededor del fruto u hortaliza de tal manera que prolongue la madurez o el estado óptimo de consumo en almacenamiento, el microambiente creado debe disminuir la concentración de O<sub>2</sub> disponible, para que el fruto lleve a cabo sus reacciones metabólicas, aumentando con esto la concentración de CO<sub>2</sub> y por lo tanto disminuyendo la velocidad de respiración. La finalidad de la atmósfera modificada es reducir el contenido del oxígeno dentro del empaque, estos niveles se alcanzan mediante una técnica llamada “flushing”. El gas flushing es el reemplazamiento de aire normal en el envasado por una mezcla de gases, generalmente se utiliza O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> (Montero, 2002).

A diferencia del término atmósfera controlada que se refiere al proceso cuando la concentración de los gases es mantenida en niveles fijos durante el almacenamiento. Generalmente los gases que se controlan con este fin son el nitrógeno, dióxido de carbono, oxígeno y vapor de agua. El uso de atmósferas controladas requiere de cámaras refrigeradas herméticas y de equipo especial para generar o suministrar los gases reguladores y controlarlos en los niveles requeridos (Barreiro & Sandoval, 2006).

- *Gases empleados en el envasado en Atmósferas modificadas*

El concepto básico del envasado en atmósferas modificadas de productos frescos cortados se refiere a la sustitución del aire que rodea al producto en el interior del envase por una mezcla de gases atmosféricos en una proporción diferente a la del aire.

San Román (1997) menciona los principales gases utilizados en el envasado en atmósfera modificada:

**Oxígeno** ( $O_2$ ), este gas es probablemente el más importante, debido a que es aprovechado metabólicamente por los microorganismos y los tejidos de las plantas, por ello se debe mantener a niveles muy bajos ya que los productos hortofrutícolas lo requieren para llevar a cabo la respiración, evitando con ello la respiración anaeróbica.

**Dióxido de Carbono** ( $CO_2$ ), es un potente inhibidor del crecimiento bacteriano, es particularmente efectivo contra bacterias Gramm negativo, microorganismos de putrefacción como las *Pseudomonas sp.* Sin embargo, el  $CO_2$  no retarda el crecimiento de todo tipo de microorganismos.

**Nitrógeno** ( $N_2$ ) es un gas inerte, con baja solubilidad en el agua y la grasa. Se emplea en MAP principalmente para desplazar al oxígeno así como para frenar la oxidación.

Las propiedades del gas empleado en MAP afectan particularmente la velocidad de sustitución de oxígeno, entre mayor sea la dimensión de la molécula y consecuentemente su peso molecular y densidad, menos eficiente y lento es el proceso de remoción de oxígeno (Negrete, 2001).

- *Relación gas/producto*

Un parámetro importante que se debe considerar en el envasado en atmósfera modificada, es la relación de volumen de gas/volumen del producto. Para ser efectiva la atmósfera de gas debe rodear completamente al producto para extender su vida de anaquel. Generalmente hablando, en muchas aplicaciones de MAP esta relación es de aproximadamente 3:1 (San Román, 1997).

- *La atmósfera de equilibrio*

Después de un cierto periodo de tiempo se logra establecer un equilibrio dinámico entre los gases producidos endógenamente en distintos centros de acción enzimática de la célula y los gases del medio ambiente que rodea a la hortaliza. Estos intercambios alimento-microambiente y microambiente atmósfera externa, se producen simultáneamente y por lo tanto es necesario que se verifiquen los siguientes equilibrios (Zapata, 1996):

- ✓ Intensidad de absorción de oxígeno por el material vegetal equivalente al flujo total de entrada de oxígeno en la bolsa
- ✓ Intensidad de emisión de CO<sub>2</sub> por el material vegetal equivalente al flujo total de salida de CO<sub>2</sub> a través del plástico

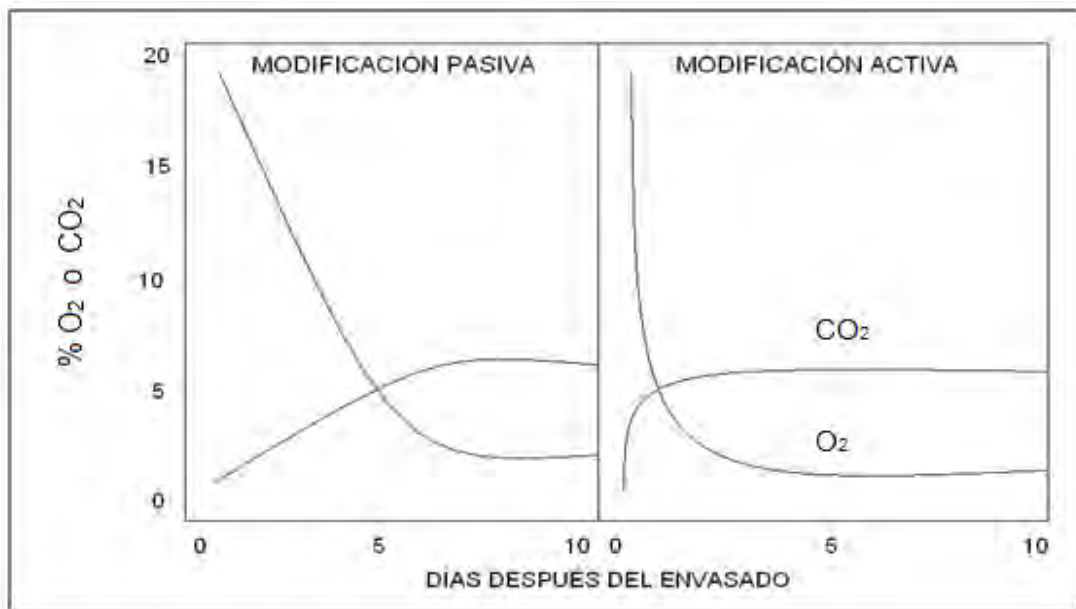
La intensidad respiratoria del producto, características de permeabilidad de la película, temperatura y humedad relativa determinan las condiciones de equilibrio de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> dentro del envase. Estos factores intervienen en el control de la atmósfera de equilibrio a diferentes niveles, estos parámetros controlan el acondicionamiento del vegetal creando un equilibrio de gases en el interior del envase sobre el que no se puede intervenir a diferencia de la atmósfera controlada en donde se ejerce un control sobre el sistema para regular la atmósfera (Zapata, 1996). En un envasado en atmósfera modificada bajo condiciones de equilibrio, las velocidades de producción de CO<sub>2</sub> y de consumo de O<sub>2</sub> son iguales a las velocidades de permeación de los gases que pasan a través de la película (Welti-Chanes y col., 2005).

- *Establecimiento de las condiciones de equilibrio*

La atmósfera modificada puede establecerse mediante dos vías diferentes: activa y pasiva o en combinación de los dos métodos.

- ✓ Activa: La atmósfera se estabiliza eliminando el aire del envase y remplazándolo por la mezcla de gases deseada, una de sus ventajas es la posibilidad de modificar inmediatamente después el envasado.

- ✓ Pasiva: En este caso la atmósfera depende de la permeabilidad a los gases ( $O_2$ ,  $CO_2$ , etileno y vapor de agua) de las películas y la respiración del producto permitirá la creación de una atmósfera de equilibrio. El equilibrio se logra después de determinado tiempo, dependiendo de los requerimientos del producto vegetal y permeabilidad, los cuales están en función de la temperatura y humedad relativa de almacenamiento.



**Figura 6.** Cambios en las concentraciones durante la conservación en atmósferas activas y pasivas (Zapata, 1996).

### 1.4.2 Efecto del envasado

- *Intensidad respiratoria*

De los principales efectos de la atmósfera modificada sobre el metabolismo de frutos y hortalizas es el descenso de la tasa respiratoria, con una disminución en el consumo de sustratos, producción de  $CO_2$ , consumo de  $O_2$  y el desprendimiento de calor. La disminución de la intensidad respiratoria depende fundamentalmente de la especie y de la composición gaseosa en el interior del envase cuando se alcanza la atmósfera de equilibrio, la disminución de la intensidad respiratoria de los productos sometidos a atmósferas modificadas es proporcional a la

concentración de oxígeno, aunque es necesario que éste no sea inferior al 3 %, pues de lo contrario se iniciará el metabolismo anaerobio, con descarboxilación del ácido pirúvico a acetaldehído y CO<sub>2</sub> y finalmente formación de etanol (Zapata, 1996).

Al ser el O<sub>2</sub>, el sustrato no solo de la citocromo oxidasa, enzima implicada en el proceso de respiración, sino también de numerosas oxidasas, fenolasa, peroxidasa, lipoxigenosa, aminooxidasa, citocromo P480, bajas concentraciones del mismo pueden modificar también los metabolitos en los que intervienen éstas enzimas (Zapata, 1996).

Aunque la respiración anaerobia comienza cuando la concentración de O<sub>2</sub> desciende por debajo de 0.2 % en el interior de la célula, el gradiente de concentración de O<sub>2</sub> es el mismo hasta el exterior y requiere el mantenimiento de niveles del orden de 2 al 3 %, dependiendo del producto, de su intensidad respiratoria y de la difusión del gas a través de los tejidos dérmicos y subdérmicos característicos de cada especie y variedad. Niveles altos de CO<sub>2</sub> pueden también afectar a la respiración, cuando la concentración es elevada, del orden del 20 %, en función del material vegetal y de la concentración de O<sub>2</sub> se puede inducir a la respiración anaerobia Kader (1985), citado por (Zapata, 1996).

- *Modificaciones en la composición química*

Las bajas concentraciones de O<sub>2</sub> y/o altas de CO<sub>2</sub>, pueden alterar el metabolismo de algunos constituyentes responsables de color, textura, sabor y aroma y/o la velocidad de su degradación o de formación. Hay que considerar también fenómenos no deseados derivados del desarrollo de la respiración anaerobia o daños fisiológicos producidos por el CO<sub>2</sub> que alteran la composición del producto, deteriorando considerablemente la calidad (Zapata, 1996). Aunque las concentraciones de CO<sub>2</sub> pueden disminuir la formación de los compuestos fenólicos, la actividad polifenoloxidasa y la oxidación de fenoles, se ha comprobado que cuando los niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> se encuentran fuera de los

límites de tolerancia se pueden producir fenómenos de oscurecimiento. Así mismo, concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub> limitan las posibilidades de obtener coloración normal del fruto cuando se transfieren al aire. La pérdida de textura se ve también frenada por determinadas atmósferas, al ralentizar los fenómenos degradativos de la pared celular. En efecto, se limita la rotura de las cadenas de pectina al reducirse la actividad de las enzimas pécticas (Zapata, 1996).

La modificación de los azúcares y ácidos orgánicos depende de la concentración de gases, mientras que las frutas mantienen un contenido de azúcares y acidez valorable más elevado, en algunas hortalizas, como brócoli, coliflor y lechuga, ocurre el fenómeno contrario. En general cuando se expone el producto a periodos largos de conservación en atmósferas modificadas se observa una disminución de la producción de compuestos volátiles y un empobrecimiento del aroma, sin embargo este efecto se atenúa cuando se transfieren al aire siempre que se encuentren en un estado pre-climatérico avanzado (Zapata, 1996).

### **1.4.3 Ventajas y desventajas del uso de envasado en atmósferas modificadas**

#### *A) Efectos negativos*

La exposición de frutas y hortalizas frescas a niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> fuera de los límites de tolerancia de cada vegetal puede inducir, además de la desviación hacia la ruta metabólica anaerobia ya comentada, otros desórdenes fisiológicos relacionados con maduraciones anormales en frutos climatéricos, oscurecimientos internos y manchas o moteados de color marrón en la piel. Si el O<sub>2</sub> no desciende de unos 10 a 12 kPa no suele ser eficaz para preservar la calidad del producto, mientras que entre 0.5 y 1.5 kPa induce la respiración anaerobia, que perjudica la calidad de los órganos vegetales en conservación. Más o menos al contrario sucede con los niveles de CO<sub>2</sub>, por lo que los efectos de la AM se deben a la tolerancia específica de cada producto a los bajos niveles de O<sub>2</sub> y/o a los

moderados o elevados de CO<sub>2</sub> (Artés-Calero, 2006). Los efectos perjudiciales de superar los límites específicos consisten en mayores riesgos de:

- Inicio y/o agravamiento de desórdenes fisiológicos como el ennegrecimiento de la pulpa en patata, la mancha parda en lechuga o el corazón pardo en manzana y pera
- Maduración anormal (banana, mango, pera y tomate), cuando el O<sub>2</sub> no alcanza 2 kPa y el CO<sub>2</sub> supera 5 kPa durante más de 2 a 4 semanas
- Aroma y sabor anómalos debidos al etanol y acetaldehído bajo anaerobiosis (O<sub>2</sub> inferior a 1 kPa y/o CO<sub>2</sub> superior a 20 kPa)
- Mayor susceptibilidad a los ataques microbianos del tejido alterado por inadecuado O<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>
- Estímulo de la germinación y retraso del desarrollo del peridermo en algunos tubérculos y raíces (patatas)

### *B) Efectos positivos*

Las principales ventajas de las atmósferas modificadas en la conservación de frutas y hortalizas son:

- La reducción de la intensidad respiratoria y del máximo climatérico
- Aumento de los periodos de tiempo pre y climatéricos del fruto, lo que permite realizar el envasado del mismo es un estado fisiológico más cercano a la madurez sensorial
- Reducción de los efectos de etileno en los frutos climatéricos y consecuentemente un retraso en la senescencia
- Limitación de la pérdida de peso y disminución de los procesos de arrugamiento
- Mantenimiento de la textura del producto
- Disminución más lenta de los contenidos de azúcares, ácidos y vitamina C
- Retraso en la degradación de clorofilas y síntesis de pigmentos (carotenoides y antocianos)
- Limitación total o parcial de alteración fisiológicas, como consecuencia de la acción fungistática y bactericida del CO<sub>2</sub>

Además de la presencia de los gases como factor benéfico, también existen ventajas en cuanto a la presencia de la película plástica en el sistema de envasado, algunas de éstas son:

- Reducción de daños superficiales debido a la supresión de contacto entre el producto y el material del envase de transporte
- Aseguramiento de la calidad sanitaria
- Eliminación total o parcial de los efectos negativos de la acción de la luz
- Disminución de la propagación de enfermedades microbianas entre bolsas debido a la barrera que supone el film
- Facilidad de identificación

#### **1.4.4 Películas plásticas como material de envase**

La elección del material de envasado depende del grado de la actividad respiratoria de producto que es, por ejemplo elevado en el caso de las hortalizas de hoja. El envasado en atmósfera modificada puede ser clasificado de acuerdo a la tasa de transmisión de oxígeno (TTO), una alta transmisión de oxígeno requiere de materiales que sean permeables mientras que una baja TTO necesita de materiales que formen barrera; las hortalizas que han sido cortadas y envasadas necesitan de un envase que tenga un alto TTO debido a que el producto sigue vivo y está respirando. El envase debe ser lo más transparente posible para que permita comprobar su contenido y calidad en el caso específico de las hortalizas de hoja también se necesita permeabilidad al vapor de agua (Montero, 2002). Para el caso de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas se están utilizando nuevos plastómeros de poliolefinas (hechas con una geometría constreñía a un solo sitio o también conocida como metalocena catalístico) el cual ofrece mayor TTO que cualquier otro material aprobado para estar en contacto con el alimento (Montero, 2002).



**Tabla 6.** Principales características de los polímeros más utilizados.

<b>Polietileno de baja densidad (LDPE)</b>	Es uno de los más utilizados debido a su gran versatilidad. Puede ser convertido a partículas, botellas, moldeado, tapas, formando pliegues con papel, revestido con papel y aluminio o película de celulosa. Su permeabilidad es baja en el caso del agua, es muy permeable al oxígeno.
<b>Polietileno de alta densidad (HDPE)</b>	Es de mayor densidad y dureza, se usa para producir botellas bastante rígidas, posee las mismas propiedades que el polietileno de baja densidad.
<b>Polipropileno (PP)</b>	Se puede utilizar para moldear partes o producir películas, se pueden elaborar bandejas de gran resistencia.
<b>Ionómeros</b>	Es la familia de los polímeros dónde las fuerzas iónicas están presentes en las cadenas, tiene propiedades parecidas a las del polietileno.
<b>Copolímero etileno vinilo acetato (EVA)</b>	Es un copolímero muy flexible en forma de lámina, es bastante permeable al vapor de agua y gases; puede ser sellado térmicamente o por alta frecuencia.
<b>Policloruro de vinilo (PVC)</b>	En su forma no plastificada (UPVC), éste film es lámina base termoformable más ampliamente utilizada como envasado en atmósfera modificada. Posee una buena capacidad barrera frente a los gases y moderada al vapor de agua.
<b>Policloruro de vinilideno (PVdC)</b>	Es un polímero de cloruro de vinilideno con cloruro de vinilo; se utiliza en el envasado en atmósfera modifica como un recubrimiento barrera frente a los gases para films de cubiertas y en forma de película como una lámina barrera comprimida.
<b>Poliestireno (PS)</b>	El poliestireno es un polímero termoplástico claro, con una elevada resistencia a la extensión, pero con propiedades barreas reducidas frente al vapor de agua y a los gases.
<b>Poliestireno de alto impacto (HIPS)</b>	Es un polímero termoformable, opaco; film de moderadas propiedades barrera frente a los gases, y en consecuencia es un componente para laminados o coextrusión.

<p><b>Poliacrilonitrilo (PAN)</b></p>	<p>Barex es el nombre comercial, es un polímero claro con excelentes propiedades barrera a los gases. Su capacidad de barrera frente al vapor de agua es similar al del UPVC.</p>
<p><b>Politereftalato de etilenglicol (Poliéster o PET)</b></p>	<p>El poliéster se utiliza de diferentes formas en el envasado en atmósferas modificada como film orientado de espesor reducido, de elevada claridad para films de cubierta, y en forma cristalina o amorfa como bandejas preformadas o termoformadas en la línea.</p>
<p><b>Copolímeros de etileno-alcohol vinílico (EVOH)</b></p>	<p>Como película es sensible a la humedad, es un material de muy alta barrera a los gases, es caro y por lo tanto se utiliza con menor espesor que proporciona propiedades de barrera adecuada para el laminado deseado.</p>
<p><b>Polipropileno orientado coextruido (COPP)</b></p>	<p>Aunque tiene buenas propiedades barrera para el vapor de agua, para los gases pueden mejorarse por recubrimientos con policloruro de vinilideno (PVdC), si se utiliza principalmente en variaciones del film básico, puede laminarse como componente de la lámina cubierta.</p>

(Fuente: Guevara, 2010 & Parry, 1993)

### *Poliiolefinas*

Se denomina poliolefina a todo aquel polímero obtenido mediante la polimerización de olefinas. El término IUPAC para olefina es “alqueno”, por lo cual a las poliolefinas también se les puede denominar polialquenos. Entre las poliolefinas se incluyen, entre otros, los siguientes productos: polietileno de baja densidad (LDPE), formado a partir de etileno a muy alta presión; polietileno de alta densidad (PEAD ó HDPE), producto de la polimerización del etileno sobre un catalizador a presión moderada; polietileno lineal de baja densidad (PELBD o LLDPE), similar al HDPE pero introduciendo como monómero olefinas más largas; polipropileno (PP), producto de la polimerización catalítica del propileno con propiedades elastoméricas; poli-alfa-olefinas, obtenidas a partir de alfa-olefinas, hidrocarburos lineales con un solo doble enlace en uno de sus extremos (Guevara,

2010). Las poliolefinas, al igual que el resto de los polímeros, no son productos definidos por unas especificaciones concretas sino que cada fabricante oferta una amplia gama de grados con propiedades diferentes, adaptadas a las aplicaciones concretas en que se usarán. Es importante, por ello, no pensar en las poliolefinas como sustancias químicas sino como materiales tan variados como puede serlo la madera y el acero; las poliolefinas son comercialmente los plásticos más comunes y económicos (Guevara, 2010).

### *Permeabilidad*

La permeabilidad puede ser considerada como la transferencia de materia existente a través de la pared que constituye el material de envasado (Bureau & Multon, 1995). La permeabilidad se mide por la cantidad de gas o líquido que penetra por unidad de tiempo y superficie a condiciones normales o estándar. El parámetro que se emplea casi siempre es la diferencia de presión parcial y no el gradiente de concentración; ambos sin embargo, son convertibles, la velocidad de permeación a través del plástico, principalmente depende en gran medida del espesor del material, de la temperatura, de la diferencia de presión en ambas caras y de la humedad relativa (Guevara, 2010).

#### A) Permeabilidad a los gases

Una adecuada permeabilidad a los gases ( $PCO_2$ ,  $PO_2$  y  $PN_2$ ) es importante para lograr atmósferas modificadas con elevadas concentraciones de  $CO_2$  capaces de inhibir el desarrollo microbiano, en el caso de vegetales esto además ayuda a disminuir la velocidad de respiración. La permeabilidad a los gases ( $PCO_2$ ,  $PO_2$  y  $PN_2$ ) es particular en cada material, pero se puede argumentar que en términos generales la permeabilidad para el  $CO_2$  es mayor que para el  $O_2$  (Guevara, 2010).

#### B) Permeabilidad al vapor de agua

Muchas películas plásticas hidrofóbicas usadas en las MAP de productos frescos son relativamente buenas barreras al vapor de agua y son capaces de mantener humedades relativas dentro del envase, incluso cuando las condiciones de la

atmósfera externa son secas. Sin embargo en el caso de las frutas, vegetales, carnes, pescados y productos con elevado contenido de agua, existe un problema, en el interior del envase la humedad relativa puede llegar a ser muy alta, lo que causa condensación de la humedad por lo que se crean condiciones favorables para el desarrollo microbiano, resultando en la descomposición del producto (Guevara, 2010). En general se emplean materiales con una permeabilidad al vapor de agua menor a  $1 \text{ g/m}^2 \text{ día}$ , opaco para las hojas, libre de fugas, resistente al estado húmedo, no debe pegarse al producto, tan resistente al plegado como sea posible y encogible (Montero, 2002). La película ideal debe ser la que sea suficientemente permeable al  $\text{CO}_2$  e impermeable al  $\text{O}_2$ , además de ser adecuada para la transmisión de vapor de agua.

### 1.5 LAS ENZIMAS DE OXIDACIÓN

Los alimentos contienen una gran variedad de enzimas endógenas que les provocan cambios benéficos y dañinos, por esta razón es importante conocer las diversas actividades enzimáticas de cada producto, para así evitar los problemas indeseables que pueden traer consigo su presencia. (Badui, 2006). Las enzimas que catalizan las reacciones de oscurecimiento son las oxidorreductasas, las cuales promueven la oxidación de los compuestos fenólicos, resultando en la producción de pigmentos oscuros, que alteran el color, sabor y textura del alimento.

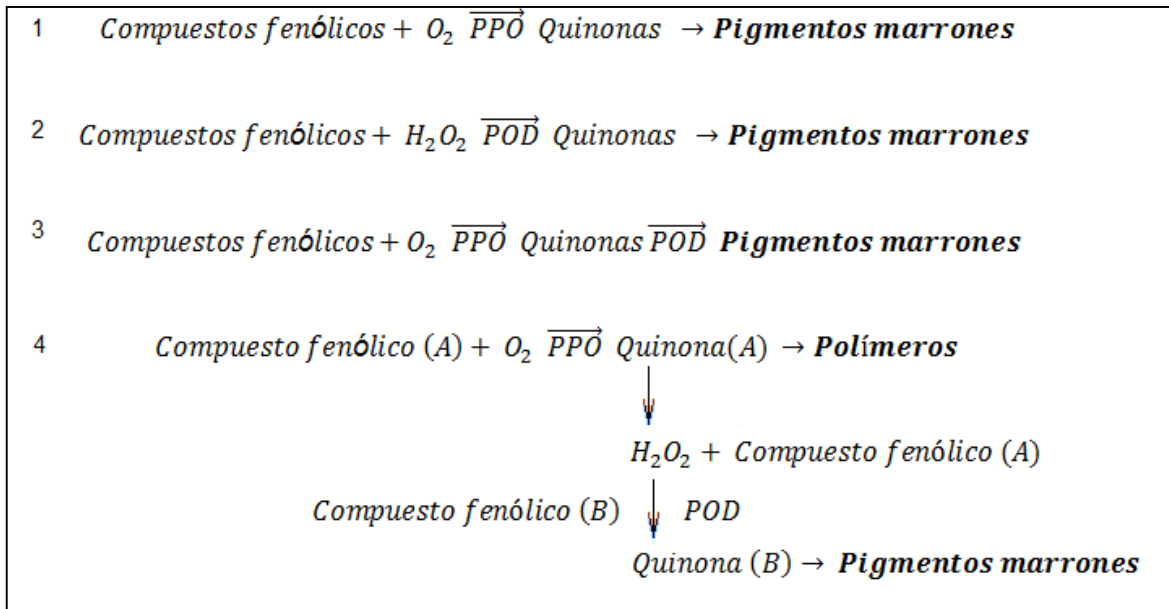
La oxidación enzimática de compuestos fenólicos pueden ocasionar oscurecimiento de frutas y hortalizas ya sea antes de la cosecha o durante la post-cosecha. El contenido de los compuestos fenólicos de los productos vegetales depende de numerosos factores como la variedad, el estado de maduración y las condiciones microambientales (luz, temperatura, nutrientes) tras la cosecha, la concentración de los compuestos fenólicos permanece constante o decrece ligeramente. Las enzimas se localizan en los organulos celulares, mitocondrias y

cloroplastos mientras que los compuestos fenólicos se localizan en la vacuola (Jeantet y col., 2006).

En la Figura 7 se muestran 4 reacciones que tienen como producto el oscurecimiento del tejido celular. La reacción 1 muestra que la PPO utiliza el oxígeno para oxidar compuestos fenólicos a quinonas que son altamente reactivos y pueden combinar entre sí y con otros compuestos para formar pigmentos marrones. La presencia de PPO en frutas y verduras significa que la enzima podría estar implicado en la reacción de pardeamiento si está en una forma activa, y no es inhibida por los productos de oxidación fenólicos, y si el oxígeno y la concentración de sustrato fenólico no son limitantes. Estas condiciones existen de manera inicial cuando las frutas y verduras sufren algún tipo de lesión o corte, y el daño al tejido permite a la enzima entrar en contacto con el oxígeno atmosférico y los compuestos fenólicos en la superficie de corte.

En la reacción 2 se muestra que alternativamente o adicionalmente, la POD puede actuar como una enzima antioxidante para eliminar el peróxido de hidrógeno presente en exceso como resultado de la condición de estrés impuesto. El peróxido de hidrógeno puede ser generado durante la degradación enzimática del ácido ascórbico y por la acción de oxidasas de amina, oxalato oxidasas, superóxido dismutasa, y ciertas enzimas POD en cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas. La autooxidación de los pigmentos marrones también puede producir iones superóxido y peróxido de hidrógeno.

Para algunos compuestos fenólicos, se ha propuesto que los productos de oxidación de quinona-PPO derivados pueden actuar directamente como sustratos para POD (Reacción 3), mientras que para otros compuestos fenólicos las quinonas espontáneamente generan peróxido de hidrógeno que puede ser utilizado por POD para oxidar un segundo compuesto fenólico (Reacción 4).



**Figura 7.** Caminos alternativos para el oscurecimiento enzimático en frutas y hortalizas (Bayindirli, 2010).

Estas reacciones están asociadas a una evolución del color de los productos, mientras que los compuestos fenólicos son incoloros la mayor parte de las veces, las quinonas son ligeramente coloreadas, generalmente de tinte amarillo, naranja, rosa, rojo o marrón. Las quinonas son moléculas muy estables, potentes oxidantes y fuertemente electrófilas, que dan lugar rápidamente a una gran variedad de productos coloreados o no (Jeantet y col., 2006). Los compuestos fenólicos pueden servir como sustratos naturales para enzimas oxidativas tales como polifenoloxidasas (PPO; EC 1.14.18.1) y peroxidasa (POD; EC 1.11.1.7) para producir o-quinonas resultantes en pigmentos marrones (Luna y col., 2012).

### 1.5.1 Peroxidasa

La peroxidasa (EC 1.11.1.7) es una hemoproteína que utiliza peróxido como sustrato oxidante y se caracterizan por su capacidad para oxidar diferentes dadores de hidrógeno, están implicadas en diversas funciones bioquímicas y fisiológicas, en particular la reticulación de las paredes de los ácidos fenólicos y en la disposición de las ligninas; las reacciones catalizadas por las peroxidasa generan compuestos que modifican el sabor de los productos vegetales y

favorecen el oscurecimiento. La limitación mas importante para que las peroxidasa participen en el oscurecimiento de los vegetales provendría de la escasa disponibilidad de peróxido de hidrógeno y que es rápidamente detoxificado por las células (Tirilly & Bourgeois, 2001 y Tomás-Barberán & Espín, 2001). Aunque la peroxidasa está ampliamente distribuida en plantas, su papel en el oscurecimiento enzimático de los alimentos sigue siendo objeto de debate, ya que el nivel interno de peróxido de hidrógeno en las plantas limita la actividad POD (Cefola y col., 2012).

**Tabla 7.** Características principales de la peroxidasa.

Clase de enzima	Nombre común	Nombre EC	Sustrato	Rango de pH	Temperatura óptima °C
Oxidoreductasa	Peroxidasa	1.11.1.7	Compuestos donadores de hidrógeno	6-8	25

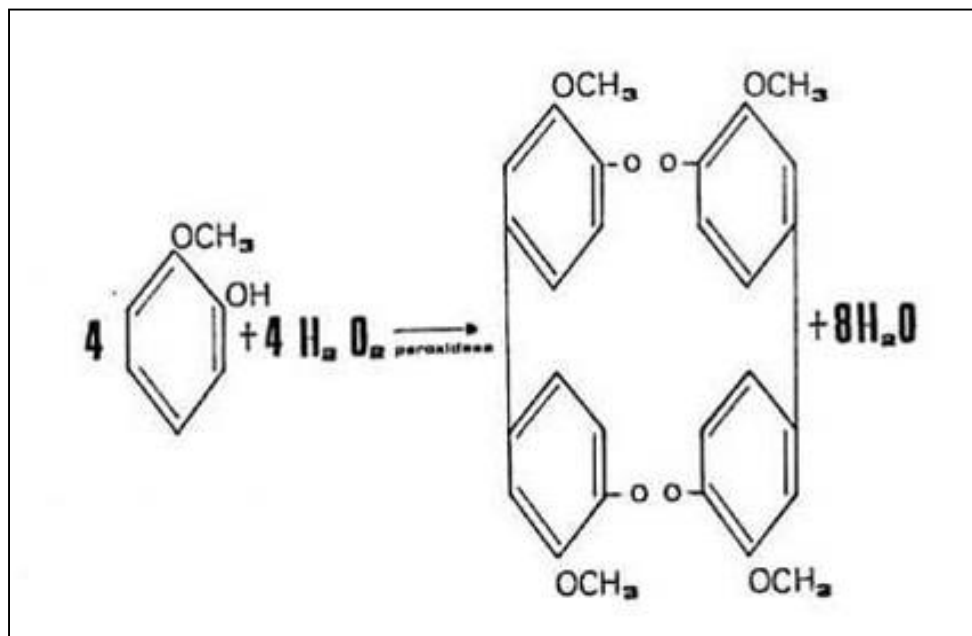
*(Fuente: Mathewson, 1998)*

Estas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal y animal, todas las peroxidasa actúan sobre el peróxido de hidrógeno como electrón aceptando un electrón y oxidando una multitud de compuestos, muchos de ellos con productos de color (Nagodawithana, 1993). Esta enzima participa en la lignificación y construcción de la pared celular, la biosíntesis del etileno a partir del ácido 1-aminociclopropano carboxílico y peróxido de hidrógeno, la regulación de niveles de auxinas, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos (Vámos-Vigýázó, 1981). La peroxidasa puede catalizar cuatro tipos de reacciones diferentes, en general cataliza la oxidación de un electrón de una amplia variedad de compuestos fenólicos en presencia de peróxido de hidrógeno, este mecanismo de la reacción se basa en la formación de complejos enzima-donador de hidrógeno y dos pasos de oxidación univalente (Vámos-Vigýázó, 1981).

## ANTECEDENTES

Las peroxidasas vegetales son capaces de oxidar una amplia gama de compuestos fenólicos endógenos y están aparentemente involucrados en reacciones de oscurecimiento tanto deseable como indeseable en la mayoría de frutas y hortalizas. La actividad peroxidasa es fácilmente monitoreada espectrofotométricamente por acción de los sustratos cuando los productos son de color, y es en esta propiedad que los ensayos de la actividad peroxidasa se basan. En todos los casos, es necesario llevar a cabo controles de la actividad enzimática en presencia de catalasa o en ausencia de peróxido, el ensayo más ampliamente utilizado, es la reacción con guayacol (Witaker y col., 2003).

La peroxidasa es una enzima que cataliza la oxidación de ciertos compuestos dadores de hidrógeno, como fenoles (guayacol, pirogalol) y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) por medio de peróxidos ( $H_2O_2$ ). En la Figura 8 se muestra el mecanismo de reacción en el que el sustrato oxidable es el guayacol, que es oxidado a un complejo coloreado de tetraguayacol en presencia de peroxidasa (Schmidt & Pennacchiotti, 2001).



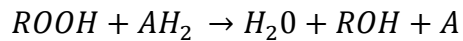
**Figura 8.** Mecanismo de reacción catalizada por la peroxidasa, utilizando guayacol como sustrato (Schmidt & Pennacchiotti, 2001).



## ANTECEDENTES

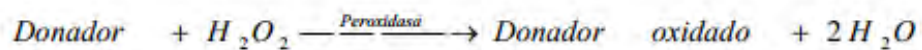
---

El mecanismo de reacción consiste esencialmente en una acción oxidativa por medio de una formación inicial de un complejo intermedio con un aceptor de hidrógeno. La transferencia de hidrógeno a partir de un donante produjo sustrato en un segundo complejo intermedio antes de la regeneración de la enzima POD y la formulación de un producto de reacción (Lamikanra, 2002). La reacción se puede resumir de la siguiente manera:

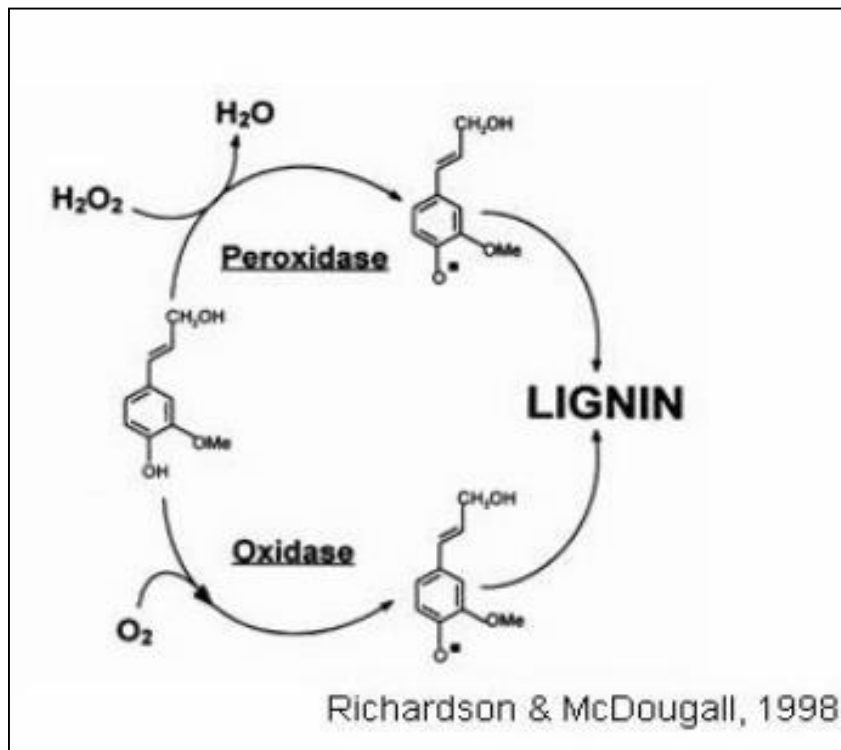


ROOH puede ser HOOH o algún otro peróxido orgánico, AH<sub>2</sub> es el donador de hidrógeno en la forma reducida, y A es el donador de hidrógeno en la forma oxidada.

Las peroxidasas son fácilmente extraídas de los tejidos por trituración en buffers acuosos. Sin embargo, se puede encontrar alguna actividad de peroxidasa en las estructuras celulares, tales como membranas y paredes celulares por lo que es necesario añadir un agente solubilizante (Nollet, 2004). La peroxidasa se encuentra en las peroxisomas, en los cloroplastos, en las vacuolas y en la pared celular. Además de estar relacionada en la protección de la célula contra daños oxidativos causados por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> también interviene en el oscurecimiento enzimático y en los procesos infecciosos, así como en la elongación de la raíz, en los procesos de lignificación de la pared celular y en la degradación oxidativa del ácido indol-3-acético. Así mismo, participa en varios procesos celulares como: desarrollo y organogénesis de la planta, senescencia, defensa de patógenos y heridas. La reacción catalizada por la peroxidasa puede representarse mediante la siguiente ecuación, según Blokhina y col. (2002) citado por Hernández, (2006).



Un incremento en la actividad y/o expresión de isoenzimas de peroxidasas es característico de la defensa de las plantas. En este sentido, se han involucrado en respuestas a enfermedades, porque al igual que las polifenoloxidasas, catalizan la oxidación de compuestos fenólicos para la polimerización de la lignina (Hernández, 2006). En la Figura 9 se muestra que la polimerización, que es un acoplamiento radical-radical, es catalizada por las enzimas oxidativas.



**Figura 9.** Reacciones oxidativas involucradas en la polimerización de la lignina (Hernández, 2006).

### 1.5.3 Efecto de las reacciones enzimáticas en el color, textura.

La apariencia y la textura son dos de los factores más importantes que afectan la calidad de las frutas y hortalizas frescas cortadas ya que son parámetros determinantes para la aceptación del consumidor.

A) *Color (Oscurecimiento enzimático)*

Se denomina oscurecimiento o pardeamiento enzimático a la transformación, enzimática en sus primeras etapas y en presencia de oxígeno, de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, frecuentemente marrones o negros pasando por coloraciones intermedias de rojo, rosa o azul. Los pigmentos oscuros que se forman al final de esta cadena de reacciones se denominan con el término general de melaninas y se produce en frutas y hortalizas ricas en compuestos fenólicos (Jeantet y col., 2006). En la Tabla 8 se muestran los principales compuestos fenólicos presentes en lechuga, éstos actúan como sustratos en las reacciones de oxidación:

**Tabla 8.** Valores medios del contenido en compuestos fenólicos de hortalizas seleccionadas ( $\mu\text{mol}$  por 100g de porción comestible).

Hortaliza	Compuesto fenólico	
Lechuga	Quercetina, glicósidos	1.7-4.8
	Ácido cafeico	16-86
	Ácido clorogénico	3.0-82

(Fuente: González y Lobo, 2000)

Las hojas de lechuga contienen varios polifenoles entre los que destacan el ácido clorogénico y el ácido cafeico, otros identificados por el mismo autor fueron: ácido isoclorogénico, quercetina, kampferol y algunas flavonas no identificadas. Este rico contenido de polifenoles constituye el primer paso para denotar la elevada susceptibilidad de la lechuga al oscurecimiento enzimático (Martínez, 2010).

Los flavonoides son también grandes suministradores de sustrato para el oscurecimiento enzimático, se encuentran en todas las plantas vasculares, en bacterias y mohos. Los flavan-3-oles, flavonoles, las flavonas, las isoflavonas, las flavononas, las isoflavononas y las antiocianinas son los principales flavonoides responsables del oscurecimiento enzimático en vegetales y están presentes en forma de glicósidos (Jeantet y col., 2006).

### *B) Textura*

Los eventos metabólicos responsables de los cambios en la textura de las frutas y hortalizas que implica la pérdida de la presión de turgencia, los cambios fisiológicos en la composición de la membrana, modificaciones en las relaciones simplasto/apoplasto, la degradación del almidón y de modificación de la dinámica de la pared celular. Durante la disminución de la firmeza, el cambio observado en una primera maduración frutas y hortalizas es la disolución de la lamela media y una disminución en la adhesión intracelular, generalmente acompañada de una reducción de la superficie de adhesión intercelular. Esta es seguida por solubilización y/o despolimerización de pectina y polisacáridos de hemicelulosa y en algunos casos la hinchazón de la pared (Bayindirli, 2010).

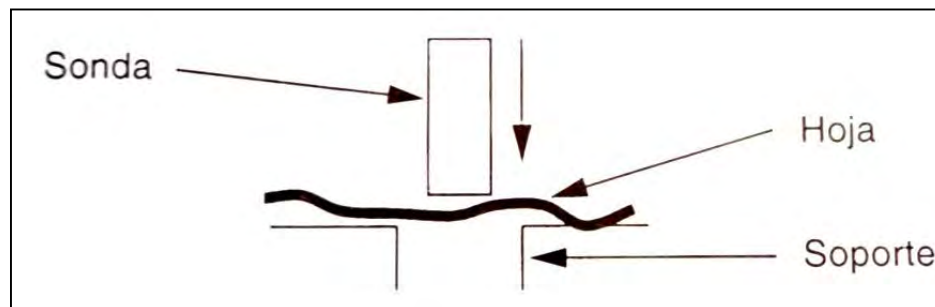
Los productos frescos cortados son mas susceptibles al deterioro que los que mantienen intacta su fisiología debido a las operaciones de pelado y corte que inducen una descompartimentación subcelular en la superficie de corte, produciendo con este daño mecánico, un aumento en la tasa de respiración y producción de etileno promoviendo así la maduración y ablandamiento de los tejidos. En los vegetales la lignificación y el desarrollo de endurecimiento es un efecto indeseable, la lignificación es producida como una respuesta de defensa de las plantas después de la lesión (Toivonen & Brummel, 2008).

Otros factores importantes en la pérdida de la textura son la pérdida de agua y los cambios osmóticos. La pérdida de agua conduce a una pérdida de turgencia y frescura que se da con mayor rapidez en los productos recién cortados debido a la ausencia de unas capas de la cutícula sub-epidérmica, la falta de integridad de la membrana permite la fuga de solutos osmóticos celulares en el espacio apoplástico, el cual provoca migración del agua y la pérdida de la turgencia (Toivonen & Brummel, 2008).

Los ensayos típicos para medir la textura en los alimentos son la prueba de punción “*puncture test*”, prueba de compresión “*compression test*” y la prueba de corte o rotura “*shear test*” las cuales se describen a continuación:

- *Pruebas de textura-Dureza (Ensayo de punción)*

Este ensayo consiste en introducir una longitud dada de un punzón, de forma y tamaño conocidos en el producto a analizar, el ensayo básico mide la fuerza necesaria para realizar esta penetración. La lechuga es un producto representativo de los alimentos-hoja, cuentan con varias particularidades desde el punto de vista del análisis de textura: las hojas, tomadas individualmente, están en general alabeadas, es decir: es imposible aplanarlas y al tomarlas en conjunto forman un manojo cuya rigidez está frecuentemente correlacionada con la rigidez del enlace entre las nervaduras principales (Roudot, 2004). Por tanto se pueden considerar dos categorías de medida: las hojas individuales y las medidas sobre el producto completo, la realización de esta prueba a una hoja de lechuga se muestra en la Figura 10.



**Figura 10.** Punción de una hoja de lechuga (Roudot, 2004).

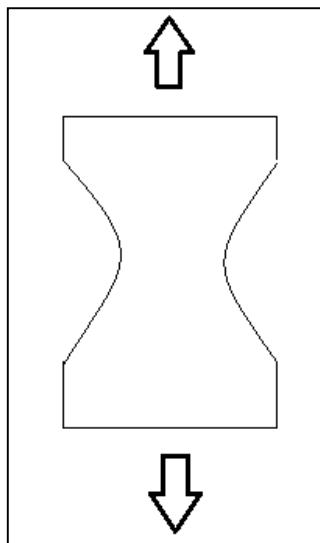
La apreciación de la textura de una hoja es poco estudiada debido a la dificultad de efectuarla, las medidas clásicas son inadecuadas debido generalmente al poco espesor de las muestras, el carácter alabeado es un elemento limitante, que impide la medida de parámetros tan simples como la superficie o la forma de la hoja (Roudot, 2004).

- *Pruebas de textura-Tracción (Ensayo de tensión)*

Se trata de un ensayo poco difundido por las siguientes razones principalmente:

- ✓ La dificultad de sujetar la muestra
- ✓ La relación, bastante difícil con las medidas organolépticas
- ✓ Para sujetar las extremidades de la muestra se utilizan: muelles, placas que aplasten el producto y pegamento.

Los dos primeros métodos plantean el problema de la acumulación de esfuerzos en la zona de sujeción, exponiéndose a provocar una ruptura, debida a la cizalla en esta parte del producto antes de la ruptura por tracción. Es necesario entonces ampliar la zona de unión para limitar el máximo valor de los esfuerzos de presión, éstos métodos se utilizan sobre muestras planas. Resueltas las condiciones de sujeción, se puede medir la fuerza necesaria para obtener la ruptura, también se puede trazar la curva de esfuerzo-deformación. En general, la destrucción es progresiva, por aparición de fisuras que se desarrollan a distintas velocidades, lo que hace más completa la interpretación de resultados (Roudot, 2004). Debido a que las pruebas de textura para alimentos están fundamentadas en pruebas mecánicas, la geometría que se muestra en la Figura 11 está basada en las probetas utilizadas en un ensayo de tracción para cualquier material, la cual se debe deformarse hasta su rotura.



**Figura 11.** Geometría de una muestra de ensayo de tracción (Roudot, 2004).

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL**

#### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la generación de una atmósfera activa sobre la actividad de peroxidasa, índice de oscurecimiento, actividad respiratoria y textura de la lechuga romana (*Lactuca sativa*), almacenada a 4 °C, mediante la variación de la concentración de gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) y área de envasado.

##### **2.1.1 Objetivos particulares**

1. Comparar el efecto de las condiciones de envasado [O<sub>2</sub>] y [CO<sub>2</sub>] sobre la actividad de peroxidasa en lechuga romana (*Lactuca sativa*) para establecer las condiciones que disminuyan el oscurecimiento durante el almacenamiento refrigerado a 4°C.
2. Determinar las variaciones de color mediante análisis de imagen obteniendo los cambios en índice de oscurecimiento en lechuga romana envasada en atmósfera modificada activa para el establecimiento de las mejores condiciones de envasado.
3. Analizar los cambios en actividad respiratoria, transpiración y textura asociados con la conservación de lechuga romana (*Lactuca sativa*) en atmósfera modificada activa para precisar el tiempo en que se mantienen los parámetros antes mencionados.

**2.2 JUSTIFICACIÓN DE VARIABLES**

Actualmente en el mercado en México no se encuentra disponible lechuga envasada en atmósfera modificada en porciones individuales, por lo cual el fin del presente trabajo es evaluar el comportamiento de someter a diferentes concentraciones de gases y contenido de producto por bolsa (conservando el espacio de cabeza) a la lechuga romana como producto fresco cortado al generarse el envasado en atmósfera modificada. Las lechugas fueron almacenadas en diferentes áreas de bolsa con contenidos de 50, 75 y 100 g, las cuales se sometieron a diferentes concentraciones de gases y se determinó la actividad enzimática, índice de oscurecimiento, cambios en la concentración de gases, textura y color; en la Tabla 9 se muestran los factores y niveles de variación, así como las técnicas e instrumentos que fueron utilizados para medir los parámetros mencionados con anterioridad. Las variables controladas en el proceso de almacenamiento fueron la temperatura (4°C) y la humedad relativa (95-98%).

**Tabla 9.** Factores y niveles de variación

Factor de variación	Nivel de variación	N° repeticiones	Variable dependiente	Variable de respuesta	Técnica/instrumento de medición
Concentración de gases	CO <sub>2</sub> (2 %) O <sub>2</sub> (1,2,3 %)	3	Unidad de actividad (U)  Cambios de color y textura	Actividad peroxidasa  Índice de oscurecimiento	Espectrofotómetro  Análisis de Imagen- Cámara oscura (L, a, b) Texturómetro/ Pruebas mecánicas (punción y tensión)
Área de envase	(22x17) cm (17x17) cm (11x17) cm	3	Concentración de gases (CO <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> )	Velocidad de respiración	Método de sistema cerrado/Analizador de CO <sub>2</sub> y O <sub>2</sub>



## **2.3 MATERIALES**

### **2.3.1 Reactivos**

Los reactivos utilizados fueron guayacol y *polivinilpirrolidona* (PVP) obtenidos de Sigma-Aldrich® (Missouri, USA); peróxido de hidrógeno 30 % purificado y fosfato de sodio dibásico heptahidratado Fermont® obtenido de Productos Químicos Monterrey S.A de C.V (Monterrey, México); octil fenol etoxilado (Triton X-100®) de J.T. Baker® adquirido de Avantor Performance Materials (Xolostoc, Estado de México); fosfato de sodio monobásico monohidratado MACRON™ Chemicals obtenido de Avantor Performance Materials Inc. (Pensilvania, USA).

### **2.3.2 Material Biológico**

Se adquirió un lote de 25 Kg de lechuga romana (*Lactuca sativa var. Capitata*) de un mercado local en Cuautitlán Izcalli en el Estado de México proveniente de Puebla, que posteriormente fue trasladada al laboratorio 16 de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación en FESC Campo 4 para ser almacenada a condiciones de 4°C, para su posterior utilización. La materia prima que se utilizó se muestra en la Figura 12, ésta se seleccionó tomando en consideración la apariencia fresca, color y olor característico, que no presentara daños mecánicos considerables debido al manejo en su transporte ni manchas por alguna enfermedad antes de su recolección, también se tomó en cuenta que el tamaño en la lechuga romana se define en base a su diámetro ecuatorial tomando tamaños que se representan con letras que van de (A) hasta la (E), el lote obtenido de lechugas tuvo un peso promedio de 887 g y un diámetro ecuatorial de 48 cm; por lo que indica la (NMX-FF-051-1982, Productos alimenticios no industrializados para uso humano- Hortalizas en estado fresco.Lechuga), se cuenta con un tamaño de denominación A.



**Figura 12.** Materia prima utilizada en el desarrollo experimental.

### **2.3.3 Material de envase**

Con la finalidad de determinar las características del envase fue necesario adquirir lechuga envasada de marca comercial Eva® y Agros® cada una con un contenido de 250 g, determinando área, volumen y capacidad. La Figura 13 muestra las ensaladas de mezcla de lechuga caracterizadas, las cuales están envasadas en atmósfera modificada pasiva.



**Figura 13.** Marcas comerciales de lechugas de IV Gama.

Se utilizó la bolsa Cryovac<sup>®</sup> PD-960, una película coextruida con multicapas de poliolefinas con propiedades de alta permeabilidad a gases y vapor de agua creada específicamente para las demandas específicas de alimentos frescos; que cuenta con una velocidad de transmisión de O<sub>2</sub> de 6,000-8,000 cc/m<sup>2</sup>/24hrs, de CO<sub>2</sub> de 19,000-22,000 cc/m<sup>2</sup>/24hrs y de vapor de agua 0.90-1.10 gms/100 sq.in/24hrs. Debido a que no se encontraban disponibles las bolsas con las áreas solicitadas para llevar a cabo la experimentación, se elaboraron las bolsas para las diferentes áreas requeridas (22x17cm), (17x17cm), (11x17cm).

## **2.4 MÉTODOS**

### **2.4.1 Acondicionamiento del equipo frigorífico**

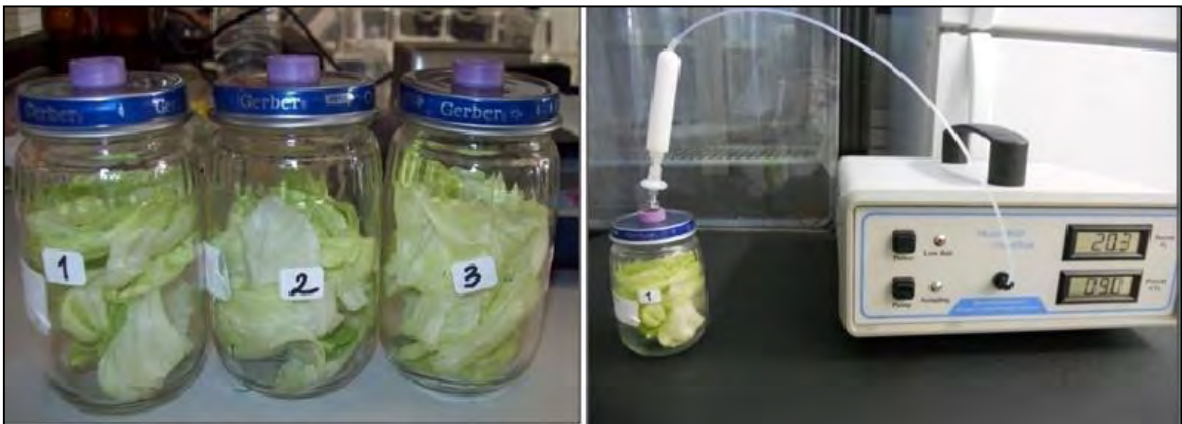
Con la finalidad de tener un control de las condiciones de almacenamiento refrigerado durante la experimentación se llevó a cabo el acondicionamiento del equipo frigorífico de tal manera que mantenga una temperatura de 4 °C y humedad relativa de >95 % se utilizó un refrigerador de la marca FRIOCIMA S.A de C.V (Celaya, Guanajuato). Se registró la temperatura y humedad relativa empleando un Data Logger (MODELO: EL-USB-2-LCD) de Lascar Electronics Inc. (Salisbury, Reino Unido) que fue programado con el software EasyLog USB versión 5.45 para monitorear la temperatura y humedad relativa durante al menos 72 horas, llevando a cabo un muestreo en diferentes puntos del frigorífico, una vez caracterizado se procedió a colocar aislantes o difusores de aire según se requiriera.

### **2.4.2 Actividad respiratoria**

La velocidad de respiración de la lechuga se midió por el método estático (Alia-Tejacal y col., 2002) utilizando un analizador de oxígeno y dióxido de carbono portátil Modelo 902D de Quantek Instruments Inc., (Massachusetts, USA), determinando los cambios de concentración de los gases durante el tiempo de almacenamiento.

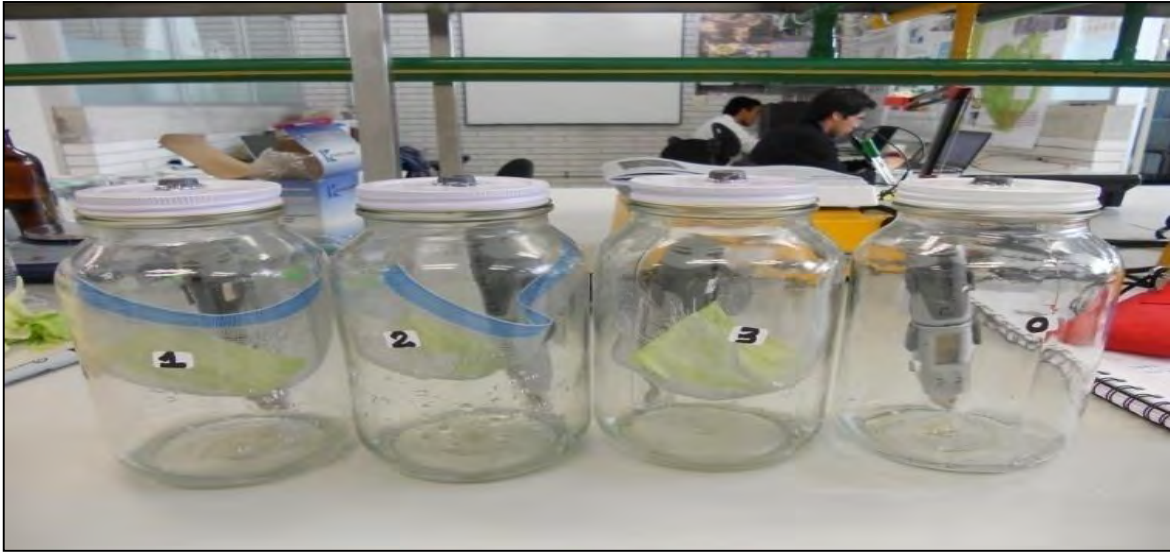
En la Figura 14 se muestra que para determinar la velocidad de respiración, fue necesario adaptar a un frasco de vidrio con tapa hermética una septa para realizar la medición de los cambios en la concentración de gases dentro del recipiente, el cual se llenó al 70 % de su capacidad con lechuga, este procedimiento se realizó por triplicado.

La tasa respiración expresada como la producción de  $\text{CO}_2$  y el consumo de  $\text{O}_2$  se obtuvo mediante el modelo predictivo para la tasa respiratoria reportado por Durá de Miguel (2010), se determinó a partir de la pendiente de la recta de la regresión lineal para la variación de la concentración de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  respecto al tiempo.



**Figura 14.** Método del sistema cerrado para la determinación de la velocidad de respiración en lechuga.

Como parámetro que corresponde a los cambios en la respiración se determinó la transpiración para lo cual fue necesario adaptar en un frasco con tapa hermética, un Data Logger MODELO: EL-USB-2-LCD (previamente programado para que monitoree la temperatura y humedad relativa durante 10 días), una malla metálica de forma horizontal en el centro del frasco (Ver Fig. 15) dónde se pudiera colocar una placa de lechuga de dimensiones  $6 \times 6 \times 0.05$  cm; así mismo se colocó 20 mL de agua para general una humedad relativa elevada. Se realizaron 3 réplicas y un control que se conservó en refrigeración a  $4^\circ\text{C}$ .



**Figura 15.** Adaptación de material para medir la transpiración.

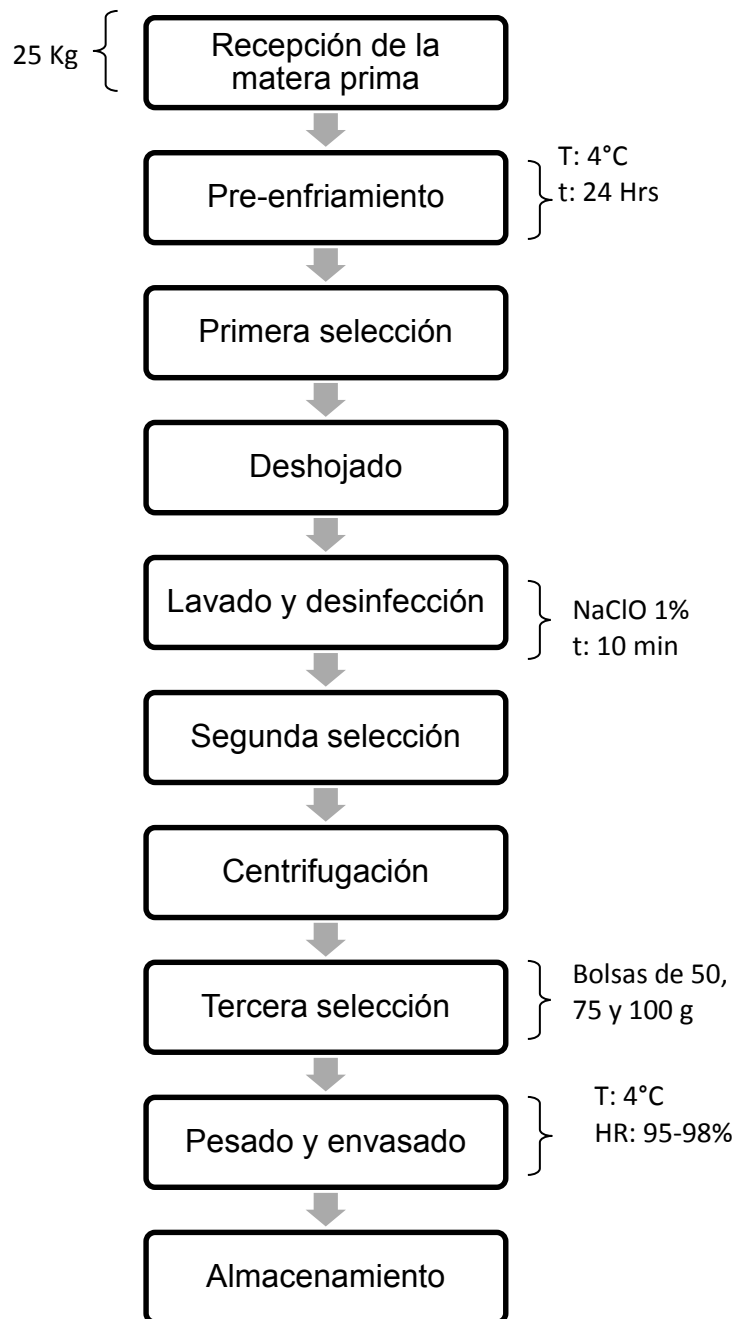
### 2.4.3 Envasado en atmósfera modificada

El envasado de lechuga se realizó en un equipo MULTIVAC Modelo: A300/16 de Sepp Haggemuller GmbH & Co, (Wolfertschwenden, Alemania) acoplada a un mezclador de gases Dansensor® (Barcelona, España) Modelo: MAP MIX 9001-3/200B esta serie se basa en el principio de mezcla proporcional de gas, cuenta con tres entradas para gases a una presión de 8.5 a 10 bar. En la Tabla 10 se resumen las concentraciones de los gases empleados en el envasado, éstos basados en algunas recomendaciones de Cantwell & Suslow (2002), para extender la vida útil de la lechuga sometida a atmósfera modificada la cual sugiere bajas concentraciones de O<sub>2</sub> (1-3 %) la cual reducirá la tasa de respiración y los efectos perjudiciales del etileno así como valores <2 % de CO<sub>2</sub> para evitar así algún tipo de desorden fisiológico (Brown stain) o mancha parda, por ello el valor del dióxido de carbono es el mismo para todas las pruebas (2 %).

**Tabla 10.** Mezcla de gases en el envasado de lechuga.

Gases de envasado	Concentraciones (%)		
O <sub>2</sub>	1	2	3
CO <sub>2</sub>	2	2	2
N <sub>2</sub>	97	96	95

El siguiente diagrama esquematiza el proceso que se llevó a cabo para envasar la lechuga en atmósfera modificada.



**Figura 16.** Diagrama de proceso del envasado de lechuga en MAP.

### **Descripción del diagrama de flujo del envasado de lechuga romana en atmósfera modificada activa**

**Recepción de la materia prima:** En esta primera etapa se recibió un lote de 25 Kg de lechuga que corresponden a 26 unidades de lechuga.

**Pre-enfriamiento:** Extracción de calor producido durante el transporte, se refrigeraron las cabezas de lechuga a 4 °C y mantuvieron así hasta su utilización.

**Primera selección:** Se realizó eliminando las cabezas de lechuga que se encontraban con algún daño físico y que no contaran con el tamaño “A”.

**Deshojado:** Se separó el tallo de la cabeza de lechuga para facilitar el deshojado y minimizar el maltrato de las hojas al ser desprendidas.

**Lavado y desinfección:** El proceso de lavado se realizó en dos etapas. En la primera se eliminó la tierra presente con agua fría y en la segunda se realizó un lavado con mayor profundidad para lixiviar los fluidos celulares responsables de alterar el tejido; en esta fase se desinfectaron las hojas de lechuga sumergiéndolas en una solución al 1 % de hipoclorito de sodio durante 10 minutos.

**Segunda selección:** Se realizó eliminando las hojas que se encontraran con alguna lesión provocada por la manipulación del lavado y desinfección, así como las que presentaran algún tipo de mancha oscura.

**Centrifugación:** Para eliminar el exceso de agua del lavado y evitar una posible contaminación por el agua disponible, las hojas seleccionadas fueron secadas en una centrífuga manual Tupperware®.

**Tercera selección:** Se descartaron las hojas de lechuga en base a su tamaño, el cual no debía ser más pequeño que la mitad del envase que la contenga, procurando que sea la hoja más completa, la que se envase.

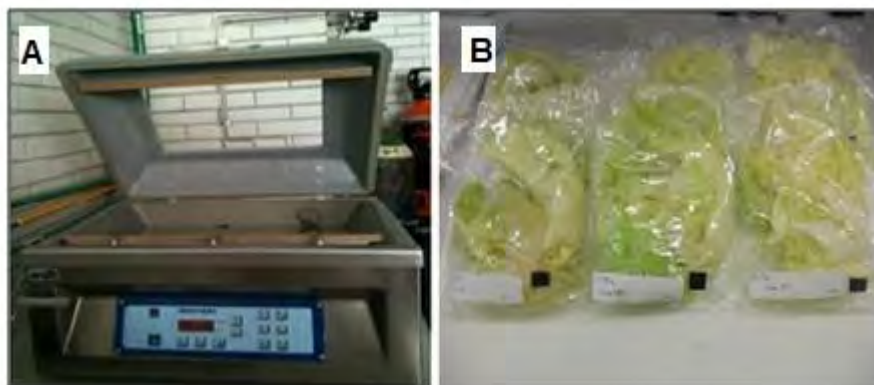
**Pesado y envasado:** El pesado se realizó en base a las capacidades de cada envase (50, 75 y 100 g). Las hojas de lechuga se envasaron en bolsas de poliolefinas a diferentes concentraciones de gases (Ver Tabla 10).

**Almacenamiento:** Las bolsas de lechuga se mantuvieron almacenadas en refrigeración a 4 °C, durante 11 días.

Todas las etapas del proceso de selección de lechuga descritas con anterioridad se muestran en la Figura 17 y 18, así como las muestras ya envasadas a diferentes concentraciones de gases.



**Figura 17.** Manipulación y selección de las lechugas para envasar  
A) Recepción, B) Primera selección, C) Lavado y desinfección, D) Segunda selección, E) Centrifugado, F) Tercera selección.



**Figura 18.** A) Equipo MULTIVAC B) Lechugas envasadas en atmósfera modificada.



### **2.4.4 Cambios en la concentración de gases durante el almacenamiento**

Se utilizó un analizador de oxígeno y dióxido de carbono portátil Modelo 902D de Quantek Instruments Inc., (Massachusetts, USA), para controlar los niveles de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en el envase durante el almacenamiento. Las muestras de gas del espacio de cabeza se obtuvieron utilizando una aguja hipodérmica insertada a través de una septa fijada a las bolsas. El contenido de gas se expresó en porcentaje (%).

### **2.4.5 Determinación del color**

La medición del color se realizó siguiendo el método desarrollado por Padrón (2009) para obtener muestras segmentadas de alimentos mediante una herramienta de diseño computarizado, para ello se utilizó un escenario (cámara oscura), una cámara digital Nikon de 14 megapíxeles y el Software Adobe® Photoshop® CS3 Extended. El montaje del escenario consistió en colocar dentro de la caja oscura un tripié que sostiene la cámara de una resolución de 300 píxeles/pulgada, programada con un temporizador de 10 segundos, sin flash, ni zoom. La iluminación en el interior estaba constituida por dos focos de 10 watts colocados a contra esquina en la parte superior e inferior y se mantuvo un ángulo de 90° entre la cámara y la muestra; se realizaron 3 réplicas para cada muestra de lechuga.



**Figura 19.** Adaptación del escenario oscuro para la medición del color.

Obtenidas las coordenadas de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se calculó el Croma ( $C^*$ ), ángulo Hue ( $h_{ab}^*$ ) y el índice de oscurecimiento (Pereyra y Col., 1999), las expresiones utilizadas se presentan a continuación:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$h_{ab}^* = \text{arc tang} \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

$$x = \frac{a + 1.75L}{5.645(L) + a - 3.012(b)}$$

$$IO = \frac{100(x - 0.31)}{0.172}$$

Donde  $x$  representa un factor para obtener el índice de oscurecimiento (IO).

### **2.4.6 Medición de la textura**

Se realizaron dos pruebas para la medición de la textura (tensión y punción) las cuales están basadas en las normas ASTM para pruebas mecánicas destructibles, fue utilizado un texturómetro de Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Modelo CT3 (Massachusetts, USA) equipado con una celda de carga de 25 Kg. Para la prueba de punción las muestras de lechuga fueron cortadas en placas de 3X3 cm como se muestra en la Figura 21-A; se empleó la sonda cilíndrica TA40 de 5 mm de diámetro (Chandra y col., 2010) con el elemento TA-BT-KIT; se empleó una carga de activación de 10 g y la velocidad de la prueba fue de 1.5 mm/seg.

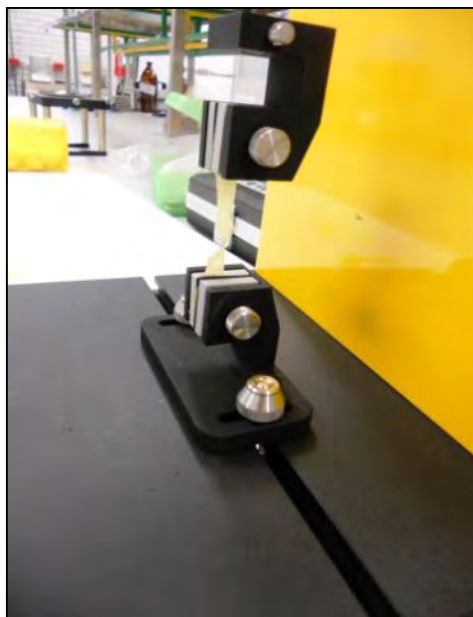


**Figura 20.** Texturómetro Brookfield® CT3 realizando prueba de punción.



**Figura 21.** Geometrías utilizadas en las pruebas de textura A) punción B) tensión.

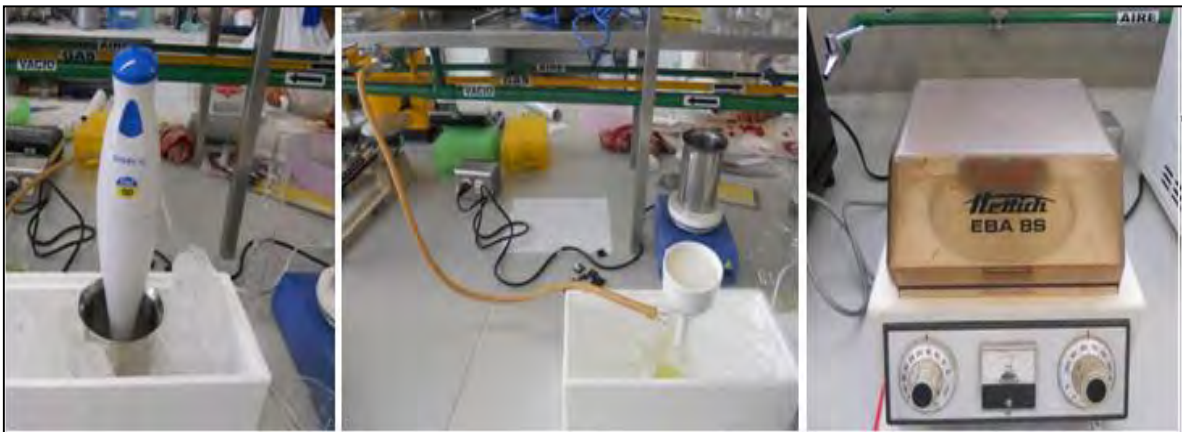
En la prueba de tensión se emplearon las muestras de lechuga en placas de 2X8 cm que fueron recortadas por un cortador en (Y), para obtener la geometría adecuada para la prueba de tensión (Roudot, 2004), la sonda usada fue la TA23 con el elemento TA-VBJ, el valor meta de la prueba fue de 10 mm con un tiempo de espera de 1 segundo.



**Figura 22.** Texturómetro Brookfield® CT3 realizando prueba de tensión.

### **2.4.7 Determinación de la actividad peroxidasa**

Para la obtención del extracto enzimático se pesaron 30 g de lechuga y se mezclaron con 90 mL de agua destilada, 25 mL del buffer de fosfatos de 6.5 de pH, 1 g de *polivinilpirrolidona* (PVP) y 250  $\mu$ L de Triton X-100 en una batidora de inmersión *Taurus España S.A. de C.V. ROBOT 180* de (D.F, México), posteriormente el homogenado se filtro en papel Whatman™ No. 4 auxiliándose de un sistema a vacío, el filtrado obtenido fue posteriormente centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga Hettich Lab. Technology MODELO EBA 8S de (Tuttlingen, Alemania); separando el sobrenadante (extracto enzimático crudo) (Altunkaya y col., 2010).



**Figura 23.** Preparación del extracto enzimático.

Con el extracto enzimático obtenido se llevó a cabo la determinación de la actividad peroxidasa para lo que fue necesario preparar un sistema que contenga 100  $\mu$ L del extracto enzimático con 200 $\mu$ L del buffer de fosfatos (pH 7.0) a 0.01 M con 500  $\mu$ L de guayacol y 500  $\mu$ L de peróxido de hidrogeno.

La determinación de la actividad enzimática se realizó en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific Inc.) que leyó la absorbancia a 470 nm de las muestras del sistema preparado con anterioridad, se registraron los cambios de absorbancia cada 30 segundos durante 15 minutos (Reuveni y col., 1991 & Chisari y col., 2010).

La actividad enzimática de la peroxidasa se calculó en base a la pendiente de la porción lineal de la curva a 470 nm en función del tiempo. Una unidad de guayacol (U), es definida como la cantidad de enzimas que oxida 1  $\mu\text{mol}$  de guayacol por minuto a 25° C (Chisari y col., 2010). Las muestras envasadas, se almacenaron durante 11 días, por lo que se realizó la medición de la actividad peroxidasa cada 3 días.



**Figura 24.** Espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis.

### 2.4.8 Análisis Estadístico

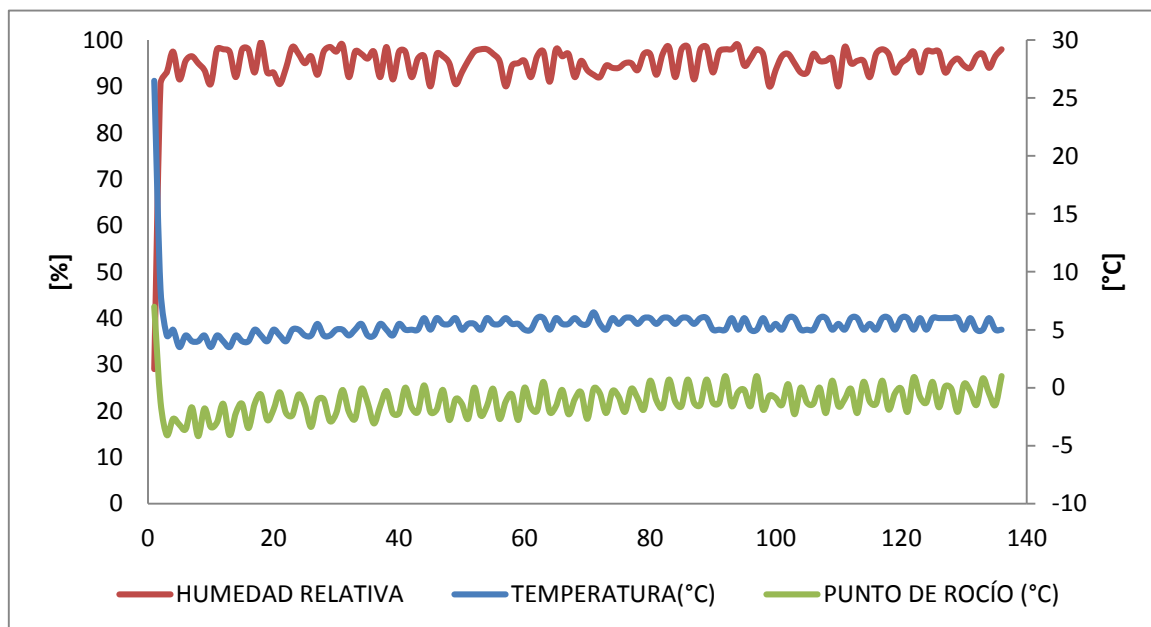
Todas las mediciones se realizaron por triplicado, se utilizó un diseño estadístico factorial completo  $2^3$ , las muestras fueron evaluadas mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) que se empleó para determinar la significación estadística de las diferencias entre las medias ( $\alpha \leq 0.05$ ), mediante el Software Minitab® 16.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Acondicionamiento del equipo frigorífico

La lechuga es un producto muy perecedero y se deteriora rápidamente cuando se incrementa la temperatura, la velocidad de respiración aumenta en gran medida y la vida de almacenamiento disminuye, según se intensifique la temperatura de almacenamiento en un rango de 0 a 25 °C; la hoja de lechuga respira al doble de velocidad que la cabeza (Salunkhe & Kadam, 2004) por ello la importancia de la caracterización del equipo frigorífico para el control de la temperatura durante el almacenamiento. En la Figura 25 se muestran los resultados de caracterización del equipo, la temperatura registrada dentro del refrigerador fue de 3.5 a 5.5 °C y en las variaciones de la humedad relativa se registraron valores entre el 92 y 98 %.



**Figura 25.** Registro de temperaturas y humedad relativa.

### 3.2 Actividad Respiratoria

En la Tabla 11 se muestran las concentraciones de gases registradas en función al tiempo una vez generada la atmósfera modificada y considerando la temperatura de almacenamiento, el monitoreo de la variación de concentraciones se llevó a cabo por 12 horas, mediante la regresión lineal se obtuvieron las pendientes y se registró en promedio una tasa de respiración de 3.78 mL O<sub>2</sub>/Kg.h y 5.11 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h. Para desarrollar apropiados sistemas MAP se debe conocer la tasa de intercambio gaseoso durante la respiración ya que resulta útil para el diseño de envases adecuados para éste producto mínimamente procesado (Martínez, 2010).

**Tabla 11.** Concentraciones de gases registradas en la respiración de la lechuga romana (media de los datos).

Tiempo (Horas)	Concentración de gases (%)	
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>
1	17.7	1.8
24	15.5	4.9
48	14.5	6.1
120	12.9	9.3
144	11.3	10.3
168	10.6	11.1

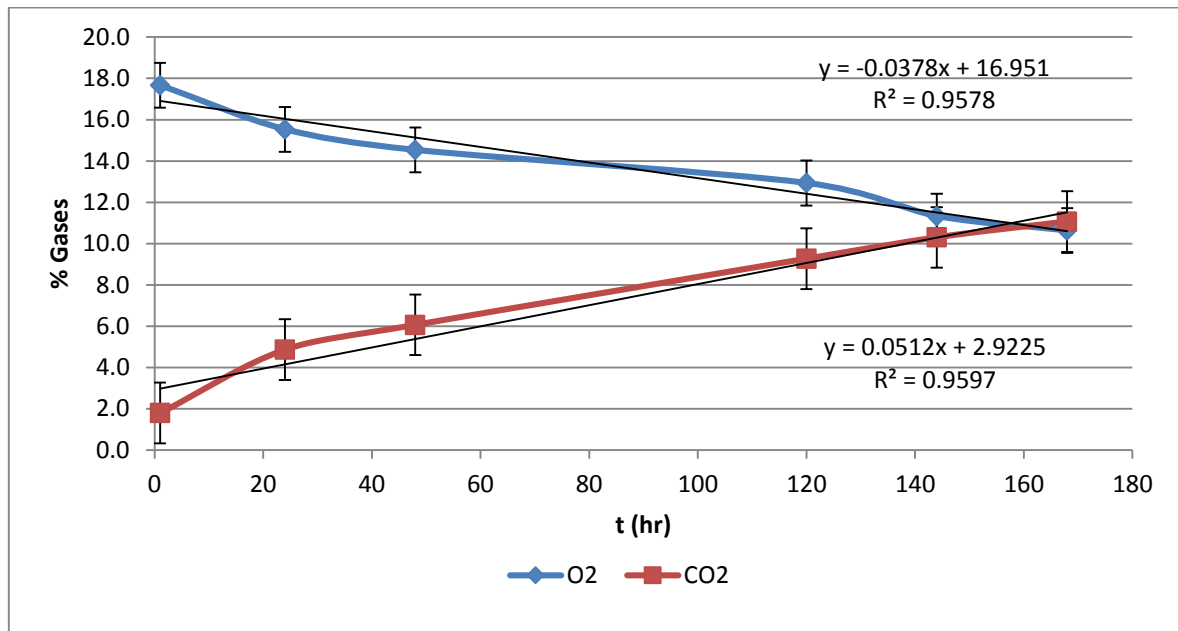
El interés de la determinación de la actividad respiratoria de un producto vegetal fresco, es debido a que es una medida directa de su actividad metabólica y adicionalmente, existe un interés práctico a la hora de diseñar envases plásticos de permeabilidad selectiva para su utilización en el almacenamiento de productos frescos en atmósfera modificada, ya que en el interior del envase la respiración depende de la temperatura y la velocidad de difusión de los gases metabólicos o permeabilidad a través del envase (Martínez y Artés, 2005).

En la Figura 26, se muestra el comportamiento de las concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, mostrándose que el equilibrio entre la concentración de gases se alcanzó a



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

las 150 horas de monitoreo por método estático, con una concentración de 10.6 % de O<sub>2</sub> y 11.1 % de CO<sub>2</sub>.



**Figura 26.** Velocidad de respiración por el método estático.

Deza-Durand & Argelin (2011) y Kader (1985), clasifican a la lechuga Iceberg como un producto con una tasa de respiración moderada, es decir que tiene una actividad respiratoria comprendida entre 5 y 10 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h medida a 5°C, por lo tanto se trata de un producto moderadamente perecedero. Los datos de respiración obtenidos en este estudio, se ajustan a los intervalos reportados por la FAO (2006) para la temperatura de almacenamiento de los productos frescos mínimamente procesados (Tabla 12) y al estudio realizado por Martínez (2010) que registra una actividad respiratoria de 7.3 y 6.5 ml CO<sub>2</sub>/Kg.h medida a 4 y 5 °C, respectivamente.

**Tabla 12.** Velocidad de transmisión de CO<sub>2</sub> para lechuga romana.

	0°C	5°C	10°C	15°C	20°C
Temperatura	(32°F)	(41°F)	(50°F)	(59°F)	(68°F)
mL CO <sub>2</sub> /k·h	3-8	6-10	11-20	16-23	25-30

(Fuente: FAO, 2006)

Las frutas y hortalizas frescas se componen principalmente de agua (80 % o más) y en la etapa de crecimiento tienen un abastecimiento abundante de agua a través del sistema radicular de la planta. Con la cosecha, este abastecimiento de agua se corta y el producto debe sobrevivir de sus propias reservas. Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado continúa perdiendo agua hacia la atmósfera, tal como lo hacía antes de la cosecha, por un proceso conocido como transpiración. La atmósfera interna de frutas y hortalizas está saturado con vapor de agua, pero a la misma temperatura el aire circundante está menos saturado (Cantwell & Suslow, 2002). La transpiración o pérdida de humedad de las frutas y hortalizas frescas es un proceso de transferencia de masa en el que el vapor de agua se transfiere desde la superficie del fruto al aire de alrededor (Martínez, 2010). La lechuga debe ser conservada a una humedad relativa superior al 95 % pero si esta llega al 100 % se podrían presentar problemas de podredumbre particularmente cuando la temperatura supera los 2° C.

La lechuga posee una gran superficie que favorece la deshidratación y pérdida de peso sobre todo a altas temperaturas por lo tanto la elección de un plástico de baja permeabilidad de agua, para la conservación debe ser fundamental. La pérdida de agua se ve favorecida durante el corte induciendo la síntesis de radicales de oxígeno y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Luna, 2012).

En la Tabla 13 se observan los datos obtenidos de la prueba de transpiración esto como producto de la actividad respiratoria de la lechuga, obtenida de la pendiente de la recta con los datos de la variación del tiempo (min) vs. Humedad relativa (%), en donde no se encontró diferencia significativa en las muestras utilizando un  $\alpha=0.05$ .

**Tabla 13.** Velocidad de transpiración de lechuga romana.

Muestras	g de agua/100 g de aire*min
1	8.79
2	9.37
3	7.15
<b>Media</b>	8.43
<b>Σ</b>	1.15
<b>C.V</b>	0.14

### 3.3 Cambios en la concentración de gases durante el almacenamiento

En las Figuras 27, 28 y 29 se muestran los cambios en las concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> de las lechugas envasadas en atmósfera modificada en bolsas de (50, 75 y 100 g) a diferentes concentraciones de O<sub>2</sub> (1, 2 y 3 %), estas mantuvieron constante su concentración de gases hasta el día 7 de almacenamiento donde la concentración de O<sub>2</sub> en el interior de los paquetes disminuyó con el tiempo de almacenamiento, mientras que la concentración de CO<sub>2</sub> aumentó, no se presentan diferencias significativas con respecto al control hasta el séptimo día. Los niveles de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> están determinadas por características de la película y la tasa de respiración, la cantidad de tiempo necesario para alcanzar estos niveles depende de la composición de la atmósfera inicial (Horev y col., 2012).

En la Figura 27(a) se muestran los cambios en la concentración de O<sub>2</sub> a diferentes porcentajes iniciales de gases y 50 % de llenado, las muestras con 3 y 2 % de O<sub>2</sub> disminuyeron su concentración dentro del envase en un 50 y 20 % respectivamente, mientras que las muestras de 1 % de O<sub>2</sub> y el control disminuyeron un 25 % en el día nueve aumentando en el día once hasta llegar al 10 %. En la Figura 27(b) se muestra que la concentración de CO<sub>2</sub> se mantuvo en 1.5 % durante los primeros siete días, las muestras con 3 % de O<sub>2</sub> inicial presentan un máximo al día 9 con un 7 % de CO<sub>2</sub>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de consumo de oxígeno es una medida de la velocidad de decaimiento de calidad relacionado con la respiración del producto, mientras que la cantidad total de oxígeno consumido está directamente relacionada con medida de las actividades metabólicas (nivel de senescencia) asociados a su respiración (Del Nobile y col., 2006). De acuerdo con Varoquaux y col. (1996), citado por Ares y col. (2008) para trastornos fisiológicos en lechuga butterhead, como el oscurecimiento y las manchas necróticas, puede producirse si la concentración de CO<sub>2</sub> en el interior de los paquetes es mayor a 10 %.

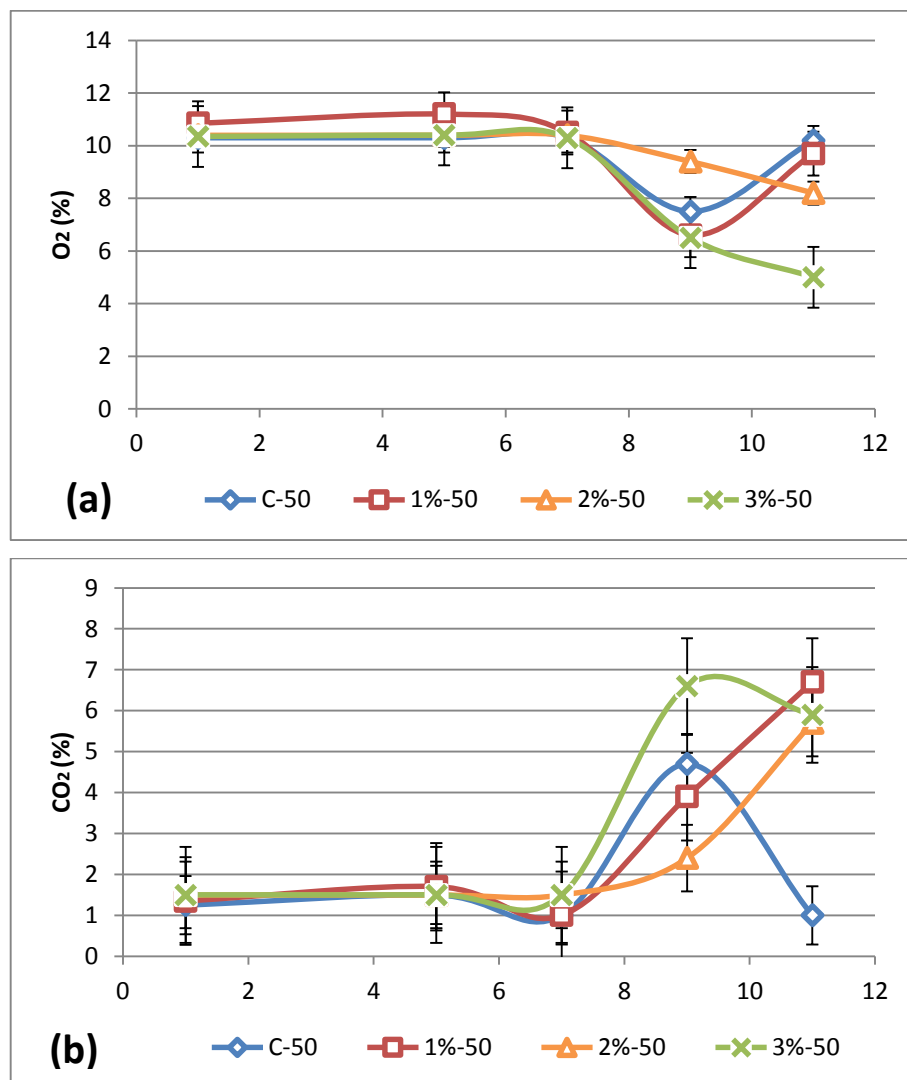


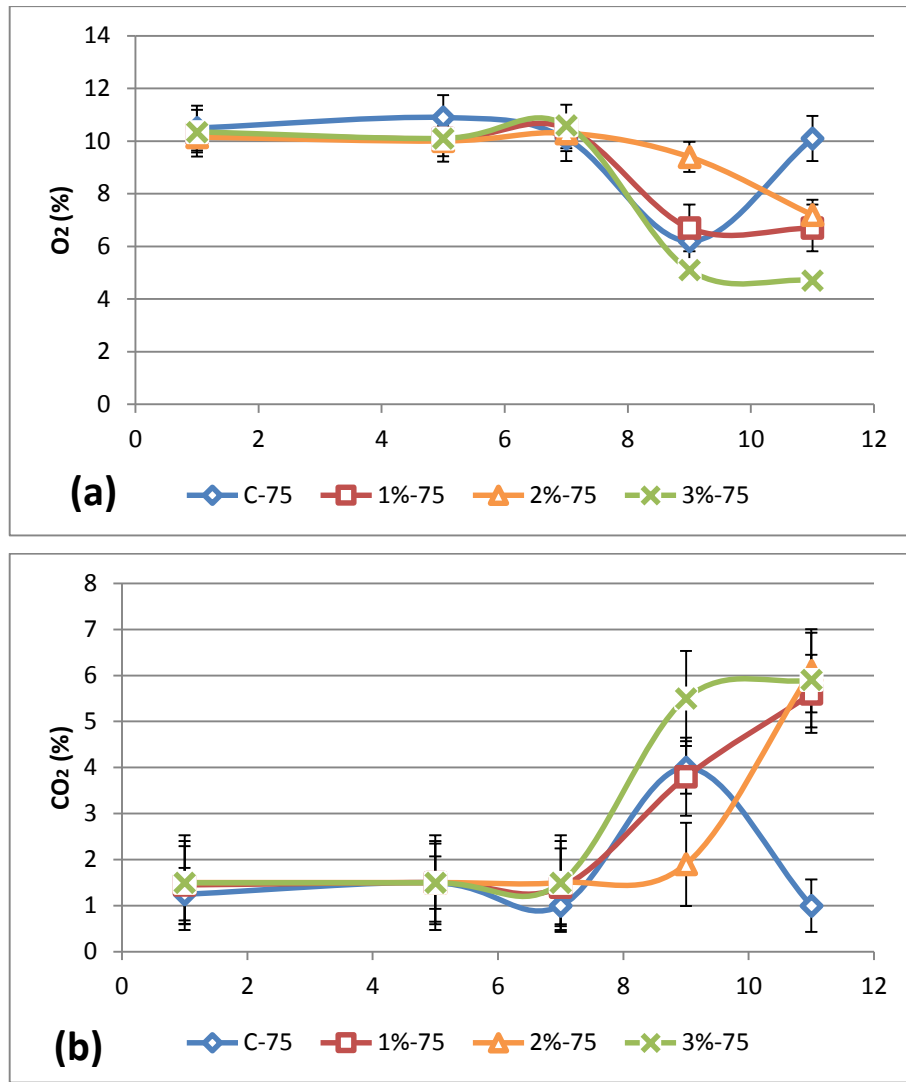
Figura 27. Cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> para bolsas de 50 g.

En todos los casos se obtuvo una concentración inicial de O<sub>2</sub> cercana al 10 %. La alta concentración de O<sub>2</sub> alcanzado fue dada por la tasa de respiración del producto, que a su vez se vio afectada por peso de llenado debido a las dimensiones y tipo de producto, la temperatura, el método de preparación, envasado y permeabilidad de la película (Martínez-Sánchez y col., 2011), mientras que la concentración de CO<sub>2</sub> dentro del envase se mantuvo en 1.5 % presentando cambios a partir del día siete.

En la Figura 28 (a y b) se muestran los cambios en las concentraciones de gases para las bolsas con 75 % de producto, mostrándose que durante los primeros 7 días no existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en las concentraciones de O<sub>2</sub>, permaneciendo estas aproximadamente en 10 % de O<sub>2</sub>. En la Figura 28(a) las muestras envasadas con 2 % inicial de O<sub>2</sub> son las que mostraron una mayor estabilidad en la concentraciones de gases hasta los 9 días de almacenamiento con una concentración de 8.5 % de O<sub>2</sub>.

En la Figura 28(b) se observan los cambios durante el almacenamiento en la concentración de CO<sub>2</sub>, al igual que para el O<sub>2</sub> no mostraron diferencia significativa respecto al porcentaje de producto considerado, sin embargo en el caso de las muestras con 2 % de O<sub>2</sub>, se presenta un equilibrio que es posible alargar hasta los 9 días de almacenamiento.

La permeabilidad de la película utilizada tuvo una velocidad de transmisión al CO<sub>2</sub> elevada (19,000-22,000 cc/m<sup>2</sup>/24hrs), por lo cual se pudieron mantener en los rangos adecuados para prevenir el daño por acumulación de CO<sub>2</sub> sin embargo, la velocidad de transmisión al O<sub>2</sub> (6,000-8,000 cc/m<sup>2</sup>/24hrs) es pequeña con respecto a la del CO<sub>2</sub> y ésta no logra compensar el cambio en la concentración de estos gases. Las concentraciones de O<sub>2</sub> no fueron menores del 5 % y las concentraciones máximas de CO<sub>2</sub> fueron inferiores a 6 %, durante todo el tiempo de almacenamiento; bajo esta composición en la atmósfera no se supone que ocurre metabolismo fermentativo en el tejido de la planta (Ares y col., 2008).



**Figura 28.** Cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> para bolsas de 75 g.

Por último en la Figura 29 (a y b) se muestran los cambios para bolsas de 100 g de producto, las que siguen la misma tendencia que el comportamiento analizado para 50 y 75 g no mostrándose diferencia estadísticamente significativa entre el equilibrio alcanzado, resaltando que más que depender del producto este se asocia a la permeabilidad a los gases de las bolsas empleadas para la conservación del producto. En la Figura 29(a) se observa que al igual que en las muestras de 50 y 75 g; la mayor estabilidad se presenta en la muestra de 2 % hasta el día 9 de almacenamiento.

En la Figura 29(b) se observan los cambios durante el almacenamiento en la concentración de CO<sub>2</sub>, las cuales no mostraron diferencia estadísticamente significativa que se mantuvo constante hasta el día 7 de almacenamiento para todos los casos con 1.5 % de CO<sub>2</sub>, el 2 % es el porcentaje que presenta un mejor comportamiento manteniendo este porcentaje hasta el día 9.

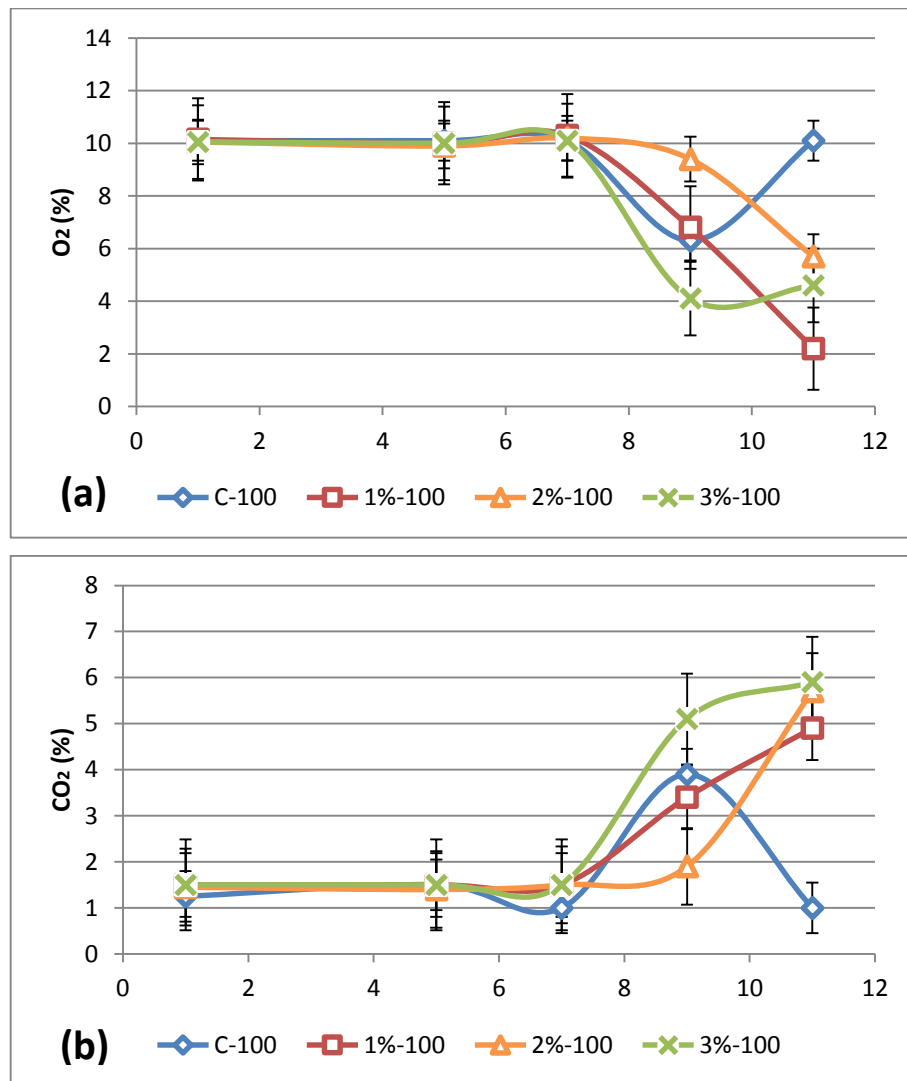


Figura 29. Cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y de CO<sub>2</sub> para bolsas de 100 g.

### 3.4 Determinación de los cambios de color

La apariencia de los vegetales frescos, afecta fuertemente la decisión de compra en el consumidor, el color es un componente de apariencia y una propiedad transcendental ya que impacta directamente en la percepción visual del consumidor. El color verde de las hojas de lechuga está determinado por la concentración de clorofila la cual es el pigmento principal de estos tejidos fotosintéticos (Caivano & Bueva, 2012).

Se evaluaron las coordenadas de cromatografía ( $a^*$ ,  $b^*$ ) y la luminosidad ( $L^*$ ) del espacio de color CIELAB, así como los atributos de color: Cromo ( $C^*$ ), ángulo Hue ( $h_{ab}^*$ ) y el índice de oscurecimiento (IO) con el fin de evaluar los cambios asociados con el oscurecimiento durante el almacenamiento. Los valores obtenidos en la caracterización de la materia prima fueron los siguientes: las coordenadas  $L^*=84$ ,  $a^*=-16$ ,  $b^*=32$ , el Cromo ( $C=36$ ), ángulo de tono ( $h_{ab}^*=118$ ) y el índice de oscurecimiento ( $IO=24$ ).





















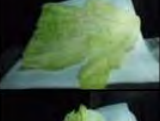


































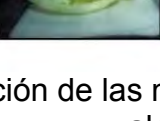

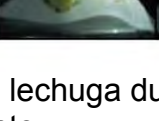
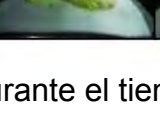
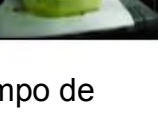
Un estudio realizado por Gras y col (2011), reporta valores para lechuga iceberg en fresco similares a los obtenidos en este estudio los cuales fueron:  $L^*=80\pm6$ ,  $a^*=-10\pm6$ ,  $b^*=30\pm6$ , el Cromo ( $C=32\pm7$ ) y el ángulo Hue ( $h_{ab}^*=110\pm10$ ).

En la Figura 30 se observan los cambios durante el almacenamiento de las lechugas envasadas con los diferentes tratamientos aplicados, esta muestra que al primer día de muestreo todos los tratamientos presentaban un color característico sin ningún tipo de cambio con respecto al día previo al envasado, desde el quinto y séptimo día aprecian pequeños cambios en cuanto a la apariencia, con la presencia de manchas rosas en la nervadura de algunas hojas, esta fisiopatía “pink rib” suele ocurrir en lechugas de madurez avanzada (Luna, 2012) y se presentó principalmente en las lechugas envasadas a las más bajas concentraciones de oxígeno y con menor contenido de lechuga (50 g).



Lipton (1961) citado por Martínez (2010) indica que las causas de la nervadura rosa (pink rib) no están del todo aclaradas, pero se conocen algunos factores que influyen, estos son: las altas temperaturas durante el transporte, elevación de la temperatura durante la conservación y un almacenamiento en una atmósfera modificada muy pobre en  $O_2$ , exceso de madurez. Sin embargo, en el estudio realizado por Martínez (2010) indicó que la coloración rosácea presente en sus muestras de lechuga fueron causadas por la rotura de las células ocasionadas por daños mecánicos, producido durante el envasado en atmósfera modificada.

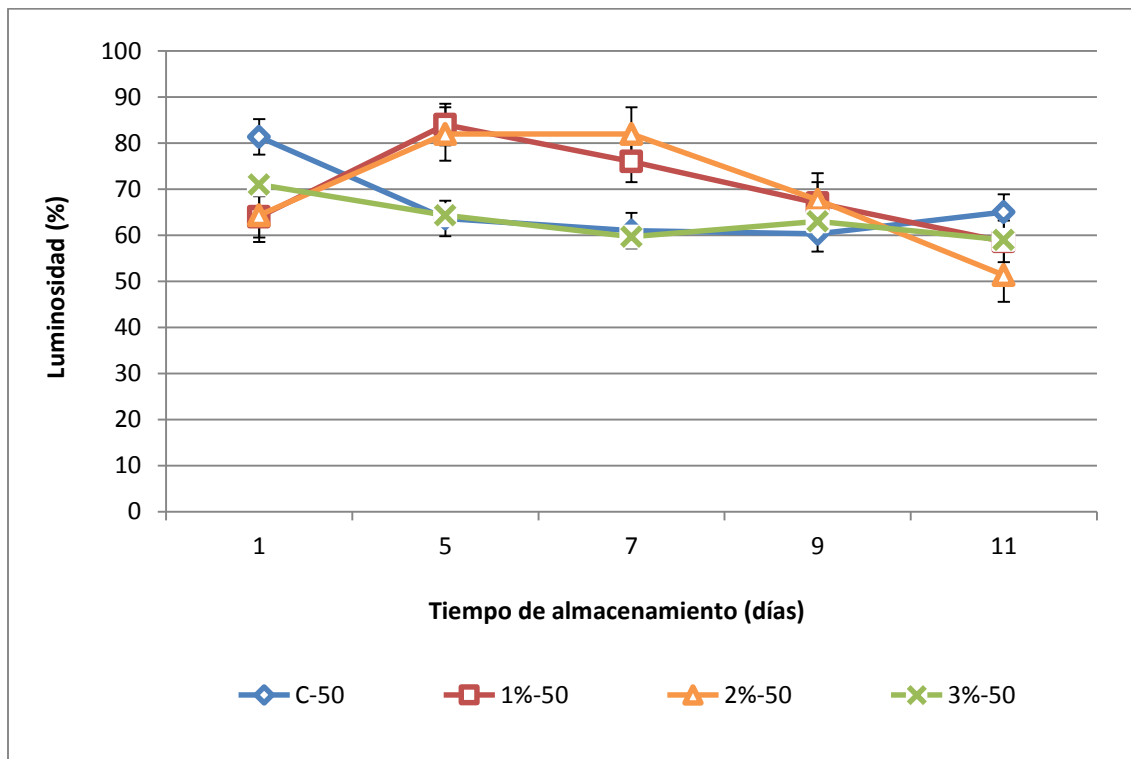
En la Figura 30, es notorio que desde el noveno y onceavo día, hay desarrollo de manchas pardas "Brown stain", debido al incremento de la concentración de  $CO_2$ , acelerando consigo el proceso de deterioro del tejido de las lechugas envasadas, este tipo de alteración fisiológica es notoria en lechugas envasadas en bolsas con capacidad de 50 g y 75 g donde se encontró un mayor incremento de concentración de  $CO_2$ . Debido a que el  $CO_2$  incrementa la acidez de los tejidos, el pH de las células puede disminuir debido a la disociación del ácido carbónico a bicarbonato mas protones hasta el punto en que las funciones metabólicas pueden ser no mantenidas, a menos que las células no tengan un mecanismo para eliminar el  $CO_2$  o mantener el pH dentro de un rango fisiológico, el  $CO_2$  podría ocasionar la muerte celular (Martínez, 2010).

TRATAMIENTO	PESO BOLSA (g)	DÍA 1	DÍA 5	DÍA 7	DÍA 9	DÍA 11
Control	50					
	75					
	100					
1% O <sub>2</sub>	50					
	75					
	100					
2% O <sub>2</sub>	50					
	75					
	100					
3% O <sub>2</sub>	50					
	75					
	100					

**Figura 30.** Evolución de las muestras de lechuga durante el tiempo de almacenamiento.

### 3.4.1 Luminosidad

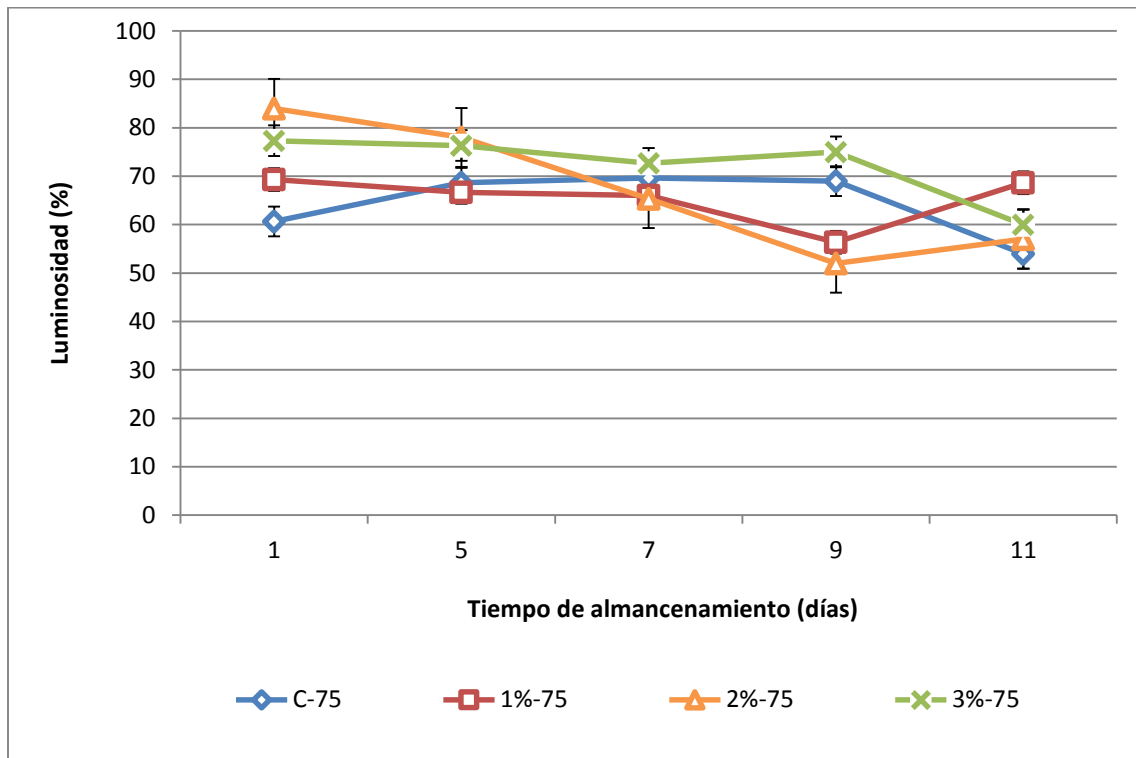
Las muestras de lechuga envasadas a 50 g con diferentes tratamientos se muestran la Figura 31, en la cual se observa un incremento de la luminosidad en los primeros días con 1 y 2 % de oxígeno, el incremento del valor L\* se relaciona con un mayor nivel de oxígeno que favorece el desarrollo de procesos oxidativos que aceleran la senescencia del producto (Mónaco y col., 2005) y el 3 % se mantuvo constante durante el almacenamiento.



**Figura 31.** Cambio en la luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 50 g de lechuga.

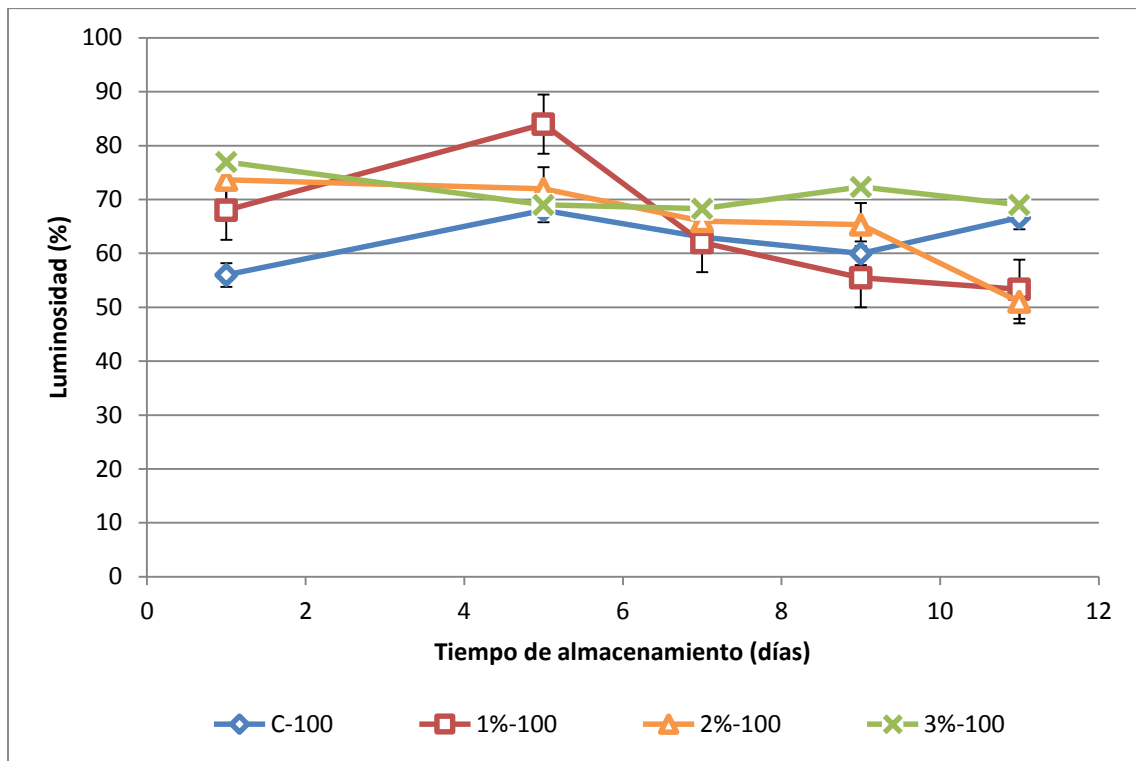
En la Figura 32 se muestran los cambios en luminosidad para las bolsas con 75 g de producto, la que mantuvieron constante su luminosidad hasta el quinto día en refrigeración y empezaron a decrecer desde el noveno día, los bajos niveles de luminosidad indican altos niveles de oscurecimiento, Martín-Diana y col. (2005) asocian el oscurecimiento de la lechuga con la oxidación de compuestos fenólicos como lo son el ácido cafeico, ácido clorogénico, quercetina y glicósidos; las

muestras con el 3 %, se mantuvieron de manera constante durante la evaluación de la luminosidad hasta el día 9, dónde empezó a disminuir.



**Figura 32.** Cambio en la luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 75 g de lechuga.

En la Figura 33 se observa que con un contenido de 100 g, el control y el 1 % de oxígeno aumentaron en los primeros cinco días, en el cual el control aumentó y el otro tratamiento se mantuvo constante desde el día siete; el 2 % tuvo un descenso hasta el día nueve y el 3 % restante se mantuvo constante durante todo el almacenamiento. Un aumento de valor  $L^*$  en tejidos fotosintéticos durante el almacenamiento se relaciona con producto más claro, por un incremento de la luminosidad por lo amarillento del producto, debido a la degradación de la clorofila que ocurre en la senescencia (Mónaco y col., 2005). Estudios realizados por Del Nobile y col., (2006) muestran que la luminosidad de lechuga romana no cambia sustancialmente durante el almacenamiento en la mezcla de hojas verdes y blancas.



**Figura 33.** Cambio en la luminosidad durante el almacenamiento en muestras de 100 g de lechuga.

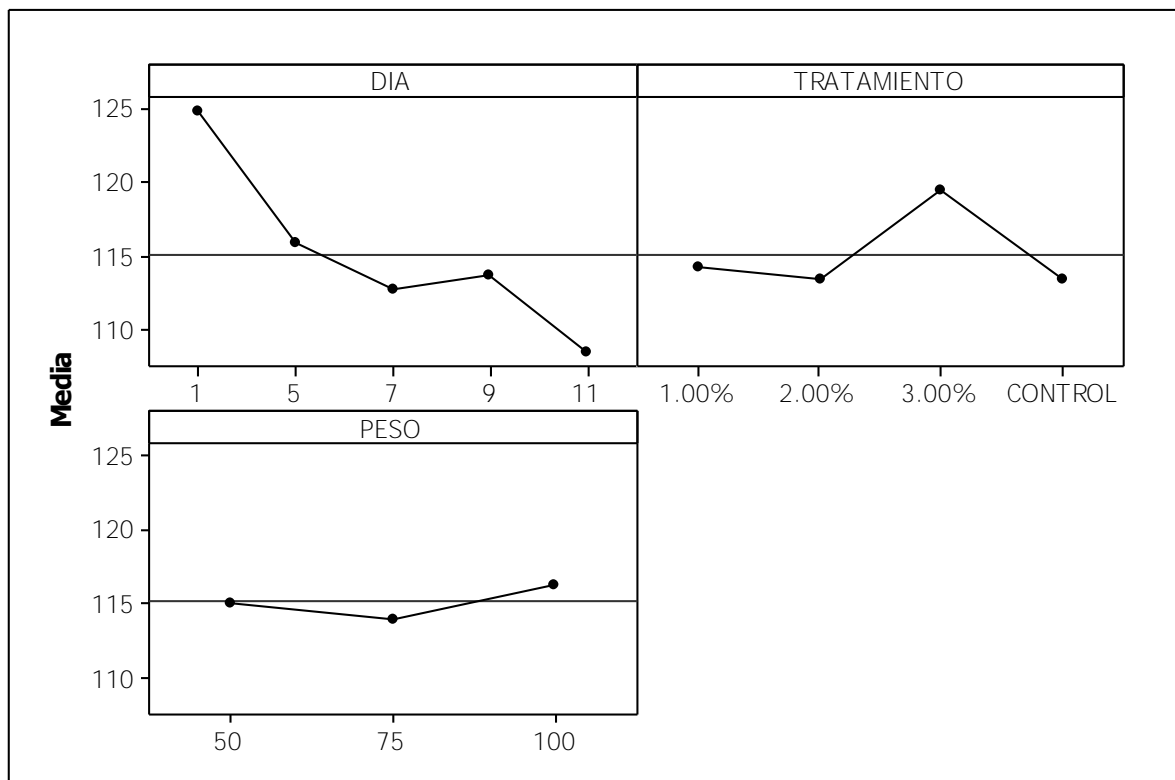
### 3.4.2 Ángulo Hue ( $h_{ab}^*$ )

Es un ángulo en un círculo de color de  $360^\circ$  donde el  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  y  $270^\circ$  representan los ángulos rojo-morado, amarillo, verde y azul respectivamente (Rocha & Morais, 2003) y representa el tono del color que comúnmente decrece gradualmente. La Figura 34 permite observar los efectos principales del ángulo Hue con respecto al día, tratamiento y peso de las bolsas envasadas, mostrando las variables para cada factor de manera independiente dando una idea de las mejores condiciones que deben ser utilizadas, pero sin tomar en cuenta las interacciones entre ellas, también se muestra que el peso o contenido de producto (50, 75 y 100 g) no es un factor que influya en el ángulo Hue manteniendo estas tres variables cercanas a la media. Por otro lado, existe un efecto importante en el tiempo de almacenamiento donde el matiz decreció progresivamente, esta disminución es atribuida a la degradación de la clorofila.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al tratamiento aplicado (concentración de gases) no se presenta un efecto importante en las muestras control, 1 y 2 % no fue así con 3 % de oxígeno que obtuvo una menor pérdida del ángulo Hue.

La degradación de la clorofila se clasifica como Tipo I y II; en productos frescos-cortados se realiza principalmente llevando a cabo el segundo mecanismo, la cual es inducida por la oxidación de los radicales oxígeno de la molécula de clorofila, en hojas de espinaca la pérdida de la clorofila ha sido asociada a la degradación mediada por la peroxidasa (Toivonen & Brummell, 2008).



**Figura. 34** Efectos principales para el ángulo Hue.

La Figura 34 como se había mencionado solo presentó el efecto de las condiciones sin considerar la interacción entre los factores se realizó un análisis estadístico ANOVA de dos factores: Hue vs. Tratamiento, peso; para analizar la interacción entre estos. El tipo de tratamiento; es decir la concentración de gases empleada presenta diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el matiz, el peso de las

bolsas envasadas así como la interacción entre estos dos factores con el matiz no presentan diferencia significativa, con valores de ( $p \geq 0.05$ ). Se realizó también un análisis de la varianza, con el modelo lineal general: Hue vs. Día, Tratamiento y peso, obteniendo que para cada factor existe una diferencia significativa, así como para la interacción día-tratamiento y día-tratamiento-peso ( $p \leq 0.05$ ).

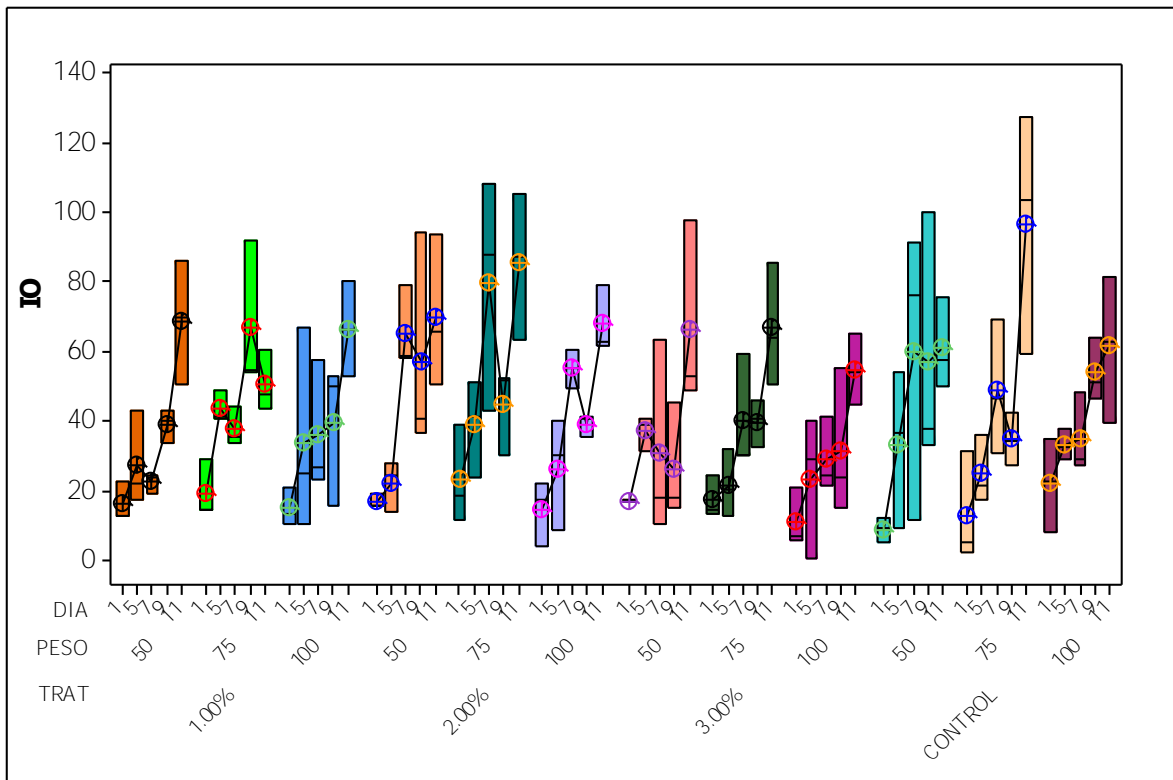
### 3.4.3 Croma

La concentración de gases y el peso de la bolsa ( $p \geq 0.05$ ) no presentaron una diferencia significativa en el croma, o la intensidad del color de las lechugas envasadas durante su periodo de almacenamiento bajo atmósfera modificada. Estudios realizados por Mónaco y col. (2005) con lechuga envasada en atmósfera modificada pasiva, utilizando la bolsa de Cryovac PD-960, misma empleada en el presente trabajo; no obtuvieron una diferencia significativa en la pérdida del color durante el almacenamiento, mostrando cambios en la respiración con concentraciones de  $O_2$  (0 - 5 %) y  $CO_2$  (21-14 %). Así mismo, Baur y col. (2005) reportó que no existen cambios entre los valores de color en lechuga envasada en atmósfera pasiva  $O_2$  (0 - 10 %) y  $CO_2$  (20 - 2.5 %) así como en el ángulo de tono y croma.

### 3.4.4 Índice de oscurecimiento

El índice de oscurecimiento, representa el color marrón real, este índice ya fue utilizado por diferentes autores para medir el desarrollo del oscurecimiento en diferentes frutas y hortalizas (Cefola y col., 2012). En la Figura 35 se muestra el gráfico de caja donde se resalta el comportamiento de la lechuga en función al peso (50, 75 y 100 g) y el tratamiento (1 %, 2 % y 3 %) así como el control de todas las muestras evaluadas en un tiempo de almacenamiento de 11 días, en la cual se observa que el índice de oscurecimiento para las muestras de lechuga envasadas en atmósfera modificada con un contenido de 100 g y con 3 % de oxígeno, presentan menor índice de oscurecimiento que las demás muestras; por otro lado las muestras del control (atmósfera pasiva) presentaron el mayor índice de oscurecimiento en este estudio. El oscurecimiento enzimático de la lechuga se

debe a la oxidación de análogos del ácido clorogénico por la PPO endógena (Fujita y col., 1991), esta decoloración limita la supervivencia comercial de la lechuga.



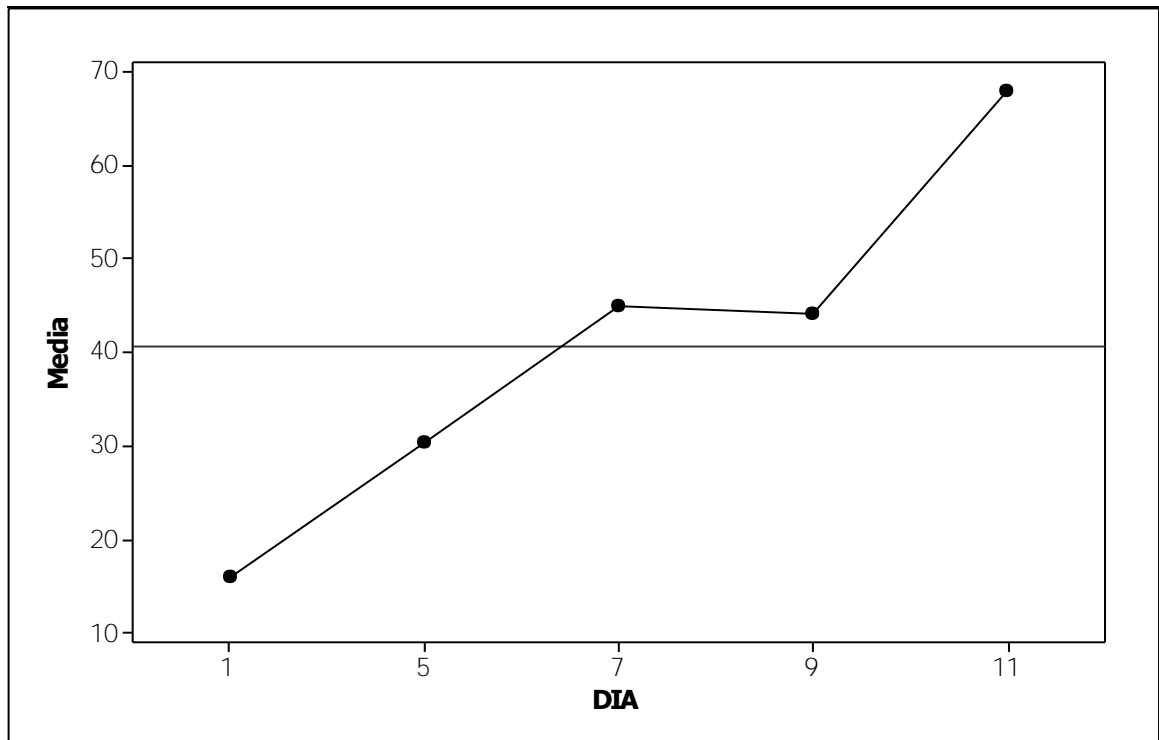
**Figura 35.** Índice de oscurecimiento para las muestras de lechuga.

En este trabajo se mantuvo una baja concentración de CO<sub>2</sub> (2 %), ya que el CO<sub>2</sub> puede inhibir el oscurecimiento a bajas concentraciones, pero a elevadas lo incrementa (Siriphanich y Kader, 1985). Por otro lado, la presencia de CO<sub>2</sub> inhibe el aumento normal de los compuestos fenólicos en los tejidos de lechuga (Martínez, 2010). Típicamente, los entornos de bajo CO<sub>2</sub> y alto O<sub>2</sub> se crean activamente para retardar pardeamiento oxidativo y retraso en la senescencia de la lechuga fresca cortada (Luna y col., 2012). La reducción del O<sub>2</sub> en la atmósfera que rodea a la lechuga mínimamente procesada reduce de forma significativa el oscurecimiento, pero se debe tener en cuenta, que una excesiva reducción puede provocar un metabolismo anaeróbico no deseado (Castañer y col., 1996).



El oscurecimiento enzimático, es una alteración del color que ocurre cuando los compuestos monofenólicos de las plantas, en presencia de O<sub>2</sub> y de las enzimas PPO y POD, son hidroxilados a *o*-difenoles y, más tarde oxidados a *o*-quinonas. Salunkhe y col., (1991) lo definieron como el oscurecimiento enzimático de los tejidos vegetales en aire debido a la presencia de derivados de *o*-dihidroxifenol, tales como el catecol y ácido cafeico así como los ácidos hidroxigálicos y el éster del ácido cafeico, tales como el ácido clorogénico.

Herman(1957) citado por Sharples (1964), reportó que las hojas de lechuga contienen varios polifenoles entre los que destacan el ácido clorogénicos y el ácido cafeico. Otros identificados por el mismo autor fueron: ácido isoclorogénico, quercetina, kampferol y algunas flavonas no identificadas. Este rico contenido en polifenoles constituye el primer paso para denotar la elevada susceptibilidad de la lechuga al oscurecimiento enzimático (Martínez, 2010). El análisis de la varianza ANOVA realizado indica que el tratamiento, el peso de la bolsa envasada así como el tiempo de almacenamiento ( $p \leq 0.05$ ) tienen un efecto trascendental en el índice de oscurecimiento. La Figura 36 muestra el desarrollo del índice de oscurecimiento con respecto al tiempo, en el cual se ve el aumento progresivo que alcanza su máximo al día 11 de almacenamiento con un valor de IO=68 en promedio.



**Figura 36.** Cambios en el Índice de oscurecimiento con respecto al tiempo.

### 3.5 Medición de la Textura

La apariencia y textura son probablemente los atributos más importantes de la calidad para los alimentos frescos-cortados ya que se relaciona con la maximización de la vida útil (Luna y col., 2013). Los vegetales mínimamente procesados que mantienen la textura firme y crujiente son muy deseables para los consumidores ya que se asocia con la frescura y calidad del producto (Martín-Diana y col., 2006). La palabra textura está relacionada con el frescor crujiente, tierno y succulento que son los términos que se aplican en grados variables para definir la calidad de las hortalizas de hoja, la lechuga Iceberg deber tener un alto nivel de los tres (Martínez, 2010). La lechuga Iceberg presenta una textura frágil, pero relativamente dura (Lipton & Rider, 1981).

Estudios sobre lechuga se han limitado generalmente a atributos sensoriales, apariencia general, marchitamiento, deterioro y trastornos fisiológicos realizados

principalmente durante las investigaciones en el embalaje y las condiciones de almacenamiento (Toole y col., 2000).

La evaluación de la textura de las muestras de lechuga se realizó con dos tipos de ensayos (punción y tensión), El método normalizado para la determinación de la firmeza es a través de la medida de la resistencia por medio de un ensayo de penetración (Barreiro y Ruiz-Altisent, 1996) en dónde la prueba de punción o penetración nos indica la firmeza de las muestras en forma de dureza (N).

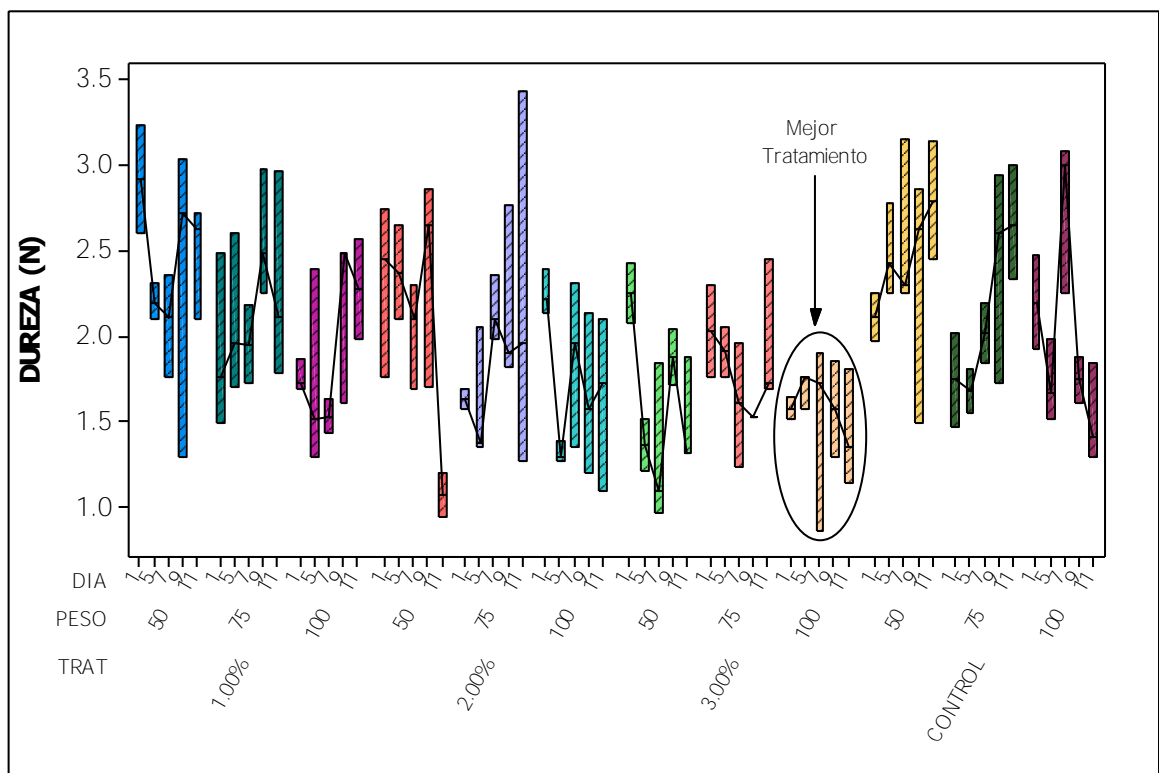
### 3.5.1 Prueba de Punción

La Figura 37 muestra los valores de dureza obtenidos en la prueba punción de las muestras de lechuga observándose que estos se encuentran en un rango de 1.5 a 3.0 N, observándose un aumento en la dureza en función al tiempo de almacenamiento independiente de la cantidad de lechuga y atmósfera aplicada. Martínez-Sánchez y col. (2011) mostraron que el carácter crujiente de lechuga romana fresca-cortada se ve fuertemente afectada por el tiempo de almacenamiento, como sucedió en el presente estudio, aunque es posible resaltar que la menor dureza 1.59 N se presenta en las muestras envasadas al 3 % de O<sub>2</sub> con un contenido de 100 g y la mayor dureza registrada se obtuvo para las muestras control (2.51 N) y el 1 % de O<sub>2</sub> (2.46 N) ambas con un contenido de 50 g. Los valores más bajos indican una mayor firmeza, mientras que los valores más altos reflejan que fue necesaria más fuerza para penetrar los tejidos, el aumento de la fuerza de perforación indica un aumento de la flexibilidad de los tejidos (pérdida capacidad a crujir) que podría ser una consecuencia del almacenamiento en refrigeración (Chandra y col., 2010).

Esta tendencia se esperaba debido a cambios en la textura y son una de las causas principales de pérdida de calidad para la lechuga mínimamente procesada, que podría ser atribuida a la deshidratación y la degradación de tejidos (Martín-Diana et al. 2006). Según estudios realizados con lechuga por Martín-Diana y col. (2006), la textura rara vez se mantiene durante más de 10 días, incluso en

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

condiciones óptimas de almacenamiento. Las propiedades texturales de las plantas son debidas a la composición de las células y a la estructura de éstas en sus tejidos. Las propiedades estructurales deben ser debidas primariamente a las paredes celulares o también a los componentes que no se encuentran presentes, tales como los carbohidratos de reserva (Martínez, 2010). El aumento de la firmeza en lechuga es asociada a la pérdida de peso que presenta debido a una alta tasa de transpiración; también a la polimerización de la lignina. En vegetales, la lignificación y el desarrollo del endurecimiento del tejido puede ser un efecto indeseable para productos frescos-cortados. La lignificación cerca del sitio del daño es un mecanismo de defensa de las plantas después de la lesión (Toivonen & Brummell, 2008).

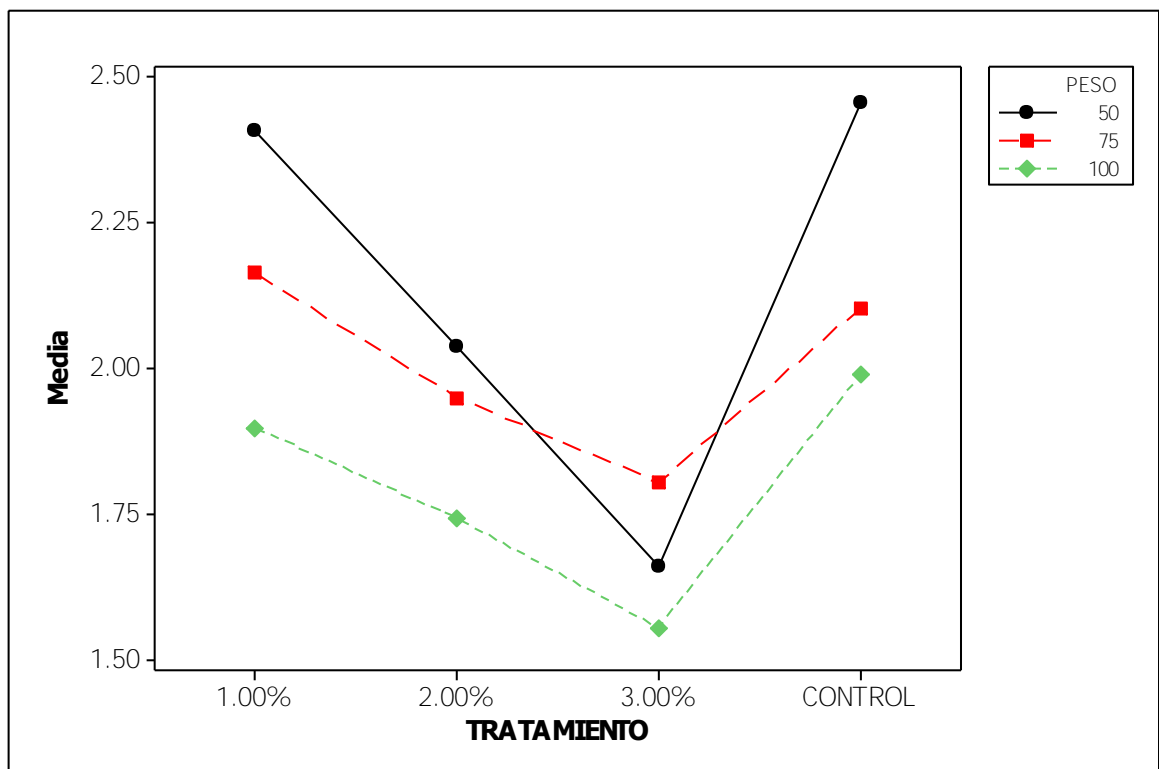


**Figura 37.** Dureza como indicador de firmeza en lechuga en función a los factores tiempo, peso y tratamiento.

El proceso mecánico de corte provoca tensiones fisiológicas caracterizadas por el aumento de la respiración, la emisión de etileno y la inducción de varias enzimas

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

tales como polifenoloxidasa, peroxidasa y enzimas relacionadas con el proceso de lignificación. La vía de lignificación está vinculado a una mayor actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL), seguido por las actividades de hidrolasas, transferasas, ligasas y deshidrogenasas (Chauhan y col., 2011). La Figura 38 muestra la interacción entre el tratamiento y el peso de envasado, en donde se obtiene que con el 1 y 2 % de concentración de O<sub>2</sub> la mayor dureza se obtuvo en las bolsas envasadas de 50 g seguidas de las de 75 g y finalmente la menor firmeza se presentó en las bolsas de 100 g. El aumento de la carga está relacionada con un aumento de la flexibilidad (pérdida de textura crujiente) (Martín-Diana y col., 2005). Este comportamiento también ocurre en las muestras control (atmósfera pasiva), y al 3 % la mayor firmeza se registra a los 75 g de bolsa y la menor a 100 g. Para todas las muestras la disminución de la firmeza es directamente proporcional al aumento de O<sub>2</sub> inyectado al inicio del envasado.



**Figura 38.** Interacción tratamiento-peso de bolsa en la dureza.

Las Figuras 39 (a, b y c) agrupadas por capacidad de bolsa muestran que en las bolsas control con 50 g de contenido (Fig. 39(a)) se fue incrementando la dureza a lo largo del almacenamiento, al igual que las de 1 % de O<sub>2</sub>, mientras que las de 2 y 3 % disminuían con respecto al tiempo. El comportamiento de las bolsas de 75 g tuvo poca variabilidad en los primeros cinco días y a partir del séptimo día se presentó un notable decremento de la dureza conforme aumentaba la concentración de oxígeno inyectado. Por otro lado las muestras de 100 g presentaron para todos los casos la menor dureza con respecto a las de 75 y 50 g, incluyendo las muestras del control y manteniendo al 3 % la menor variación en la dureza respecto a la condición inicial. Las muestras control de bajas capacidad de bolsa así como las muestras de 1 % de oxígeno, presentaron condensaciones en la bolsa, producto de la actividad metabólica de la lechuga provocando así el aumento de la dureza debido a la pérdida de agua.

La pérdida de la turgencia de la célula (pérdida de humedad), puede producir deshidratación de los tejidos (pérdida de peso) y un aumento de la elasticidad (Martín-Diana y col., 2005 y Chandra y col., 2010). La principal ventaja del uso de atmósferas modificadas es el efecto retardador del marchitamiento (Hardenburg, 1971), esto evita que el alimento pierda agua y disminuya la textura, como en el caso del tratamiento con 3 % de oxígeno.

El aumento del oscurecimiento y la pérdida de la textura crujiente son dos de las causas más importantes de pérdidas para lechugas mínimamente procesadas, para contrarrestar este problema, estudios realizados por Martín-Diana y col. (2005) mejoran la condición utilizando lavados con lactato de calcio a altas temperaturas (50°C).

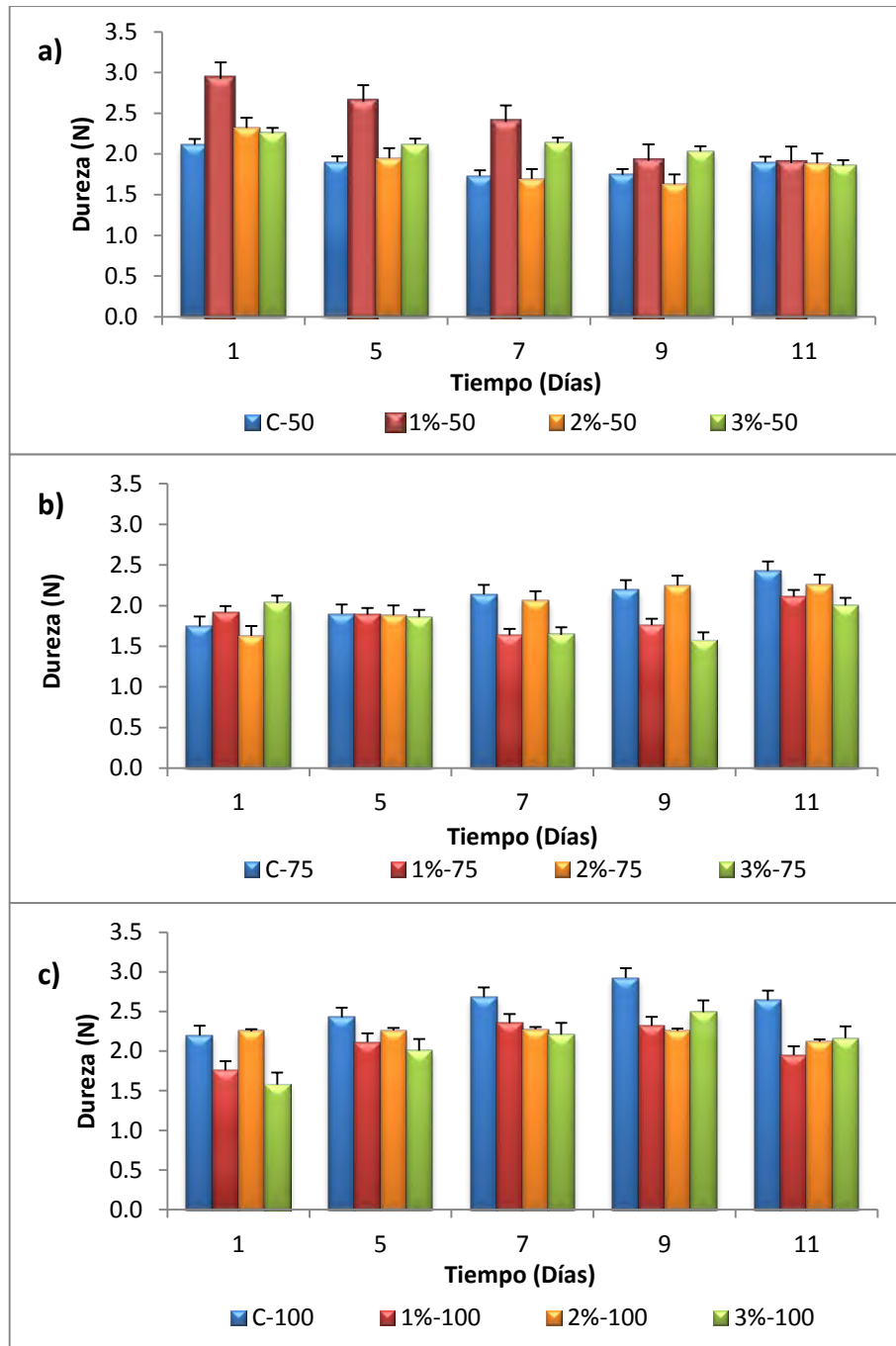


Figura 39. Cambios de la dureza durante el almacenamiento.

### **Deformación según dureza (%)**

Este parámetro, indica el grado de deformación restante del material biológico tras la eliminación de la carga causante de la deformación. En la Figura 40 (a, b y c) se muestra la variabilidad de los datos obtenidos, observándose que las bolsas de 50 g presentan un mayor deformación en las muestras control y 1 %, así mismo las bolsas de 75 g presentan un alto % de deformación en todas sus muestras (1, 2 y 3 %). A pesar que la tendencia no es clara, debido a la variabilidad de las mediciones para todas las muestras se encontró una disminución del % de deformación a lo largo del tiempo de almacenamiento, la disminución de temperatura de almacenamiento causó una reducción en la pérdida de la textura de la lechuga, lo que podría explicarse considerando menor deshidratación y baja actividad metabólica (Lareo y col., 2009).

Los valores más bajos registrados se obtuvieron en las bolsas de 100 g de capacidad con 1, 2 y 3 % de O<sub>2</sub>, se obtuvieron diferencias significativas en el peso de envasado ( $p < 0.05$ ). Baur y col. (2005) mostraron que debido a los diferentes tipos de tejido de la lechuga, impidió la medición instrumental obteniendo inconsistencias de los datos por lo que sumado a la medición se tuvieron que realizar evaluaciones de tipo sensorial. Martín-Diana y col. (2005) manifestaron que el uso de un penetrómetro (celdas de punción) en lechuga Iceberg recién cortada no es lo suficientemente sensible como para encontrar las diferencias entre los tratamientos, por lo que para considerar la efectividad de un sistema de envasado es necesario englobar más de un parámetro como sucede en este estudio.



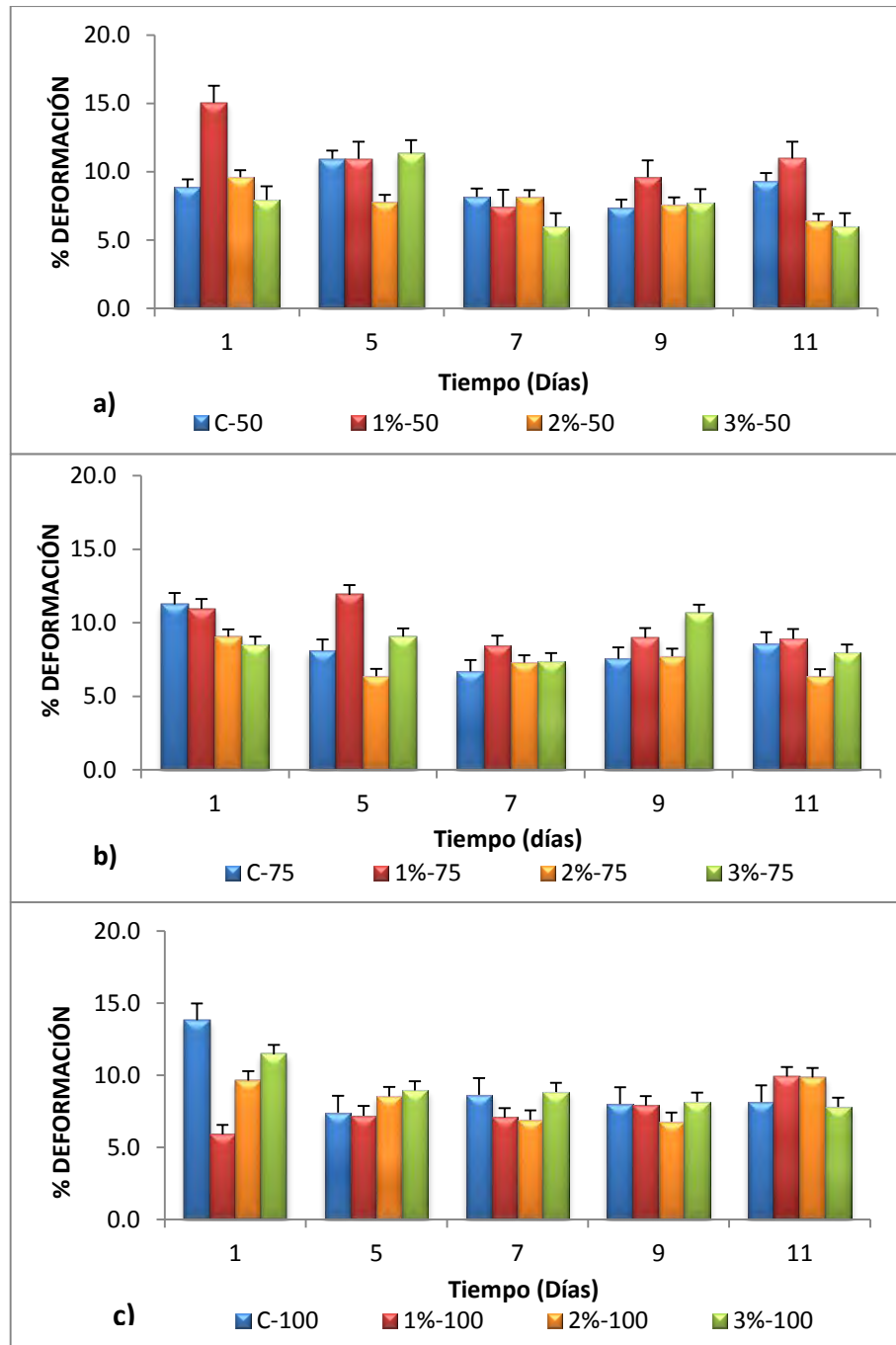


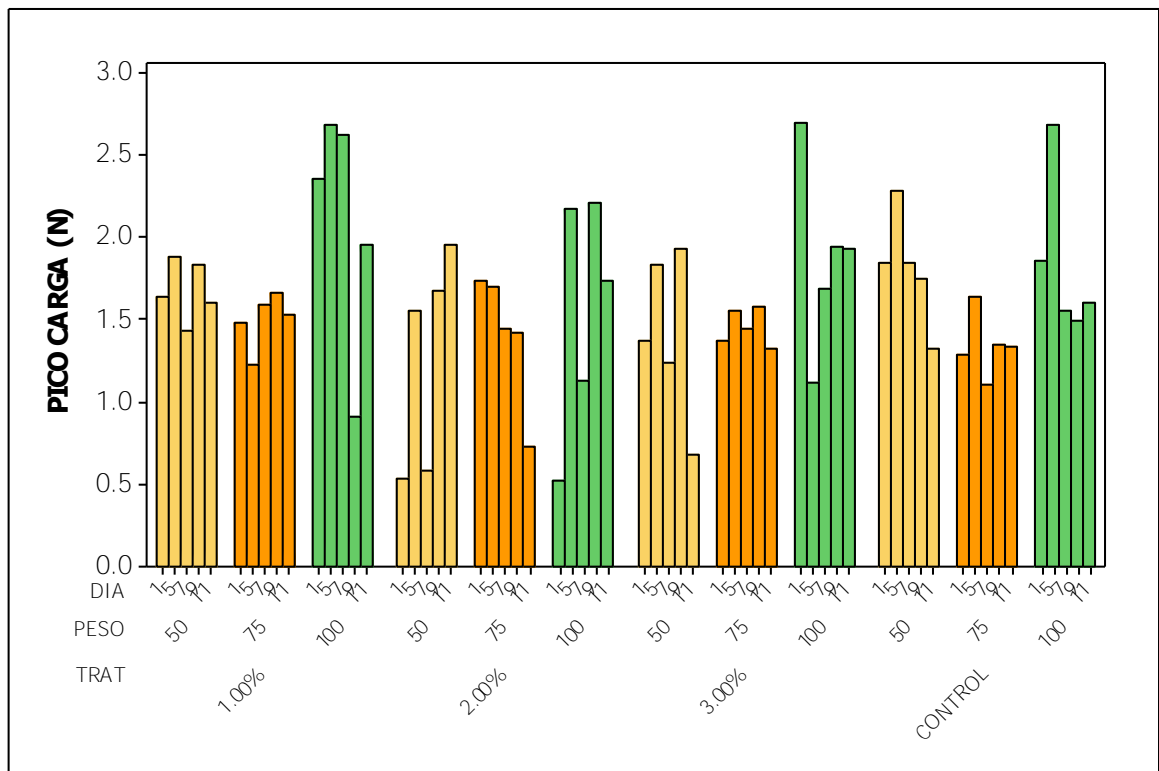
Figura 40. Deformación según dureza (%) de las muestras de lechuga.

### 3.5.2 Prueba de Tensión

La medición instrumental de la textura de la lechuga es difícil para llevarla a cabo, principalmente debido a la alta variabilidad del producto. El principal factor de variación en los resultados en el ensayo o prueba de tensión, es la posición de las fibras con respecto a las fuerzas de tensión para que la variación sea mínima. La lechuga contiene dos diferentes tipos de tejido (vasculares y la fotosintéticos), que no siempre son fáciles de diferenciar y tienen una distribución irregular. La posición relativa de los paquetes vasculares (orientaciones paralelas, oblicuas y perpendiculares) con respecto a la celda del texturómetro afecta directamente a la medición (Toole y col., 2000).

Los datos presentados, se muestran función del pico de carga (N) también llamada carga máxima o esfuerzo máximo, esto según la gráfica de esfuerzo-deformación en un ensayo de tracción, indica la máxima ordenada de la curva a comparación de la carga de fractura que muestra el verdadero esfuerzo generado por el material durante la ruptura. En los ensayos de tracción de materiales es difícil distinguir entre la carga de fractura y la carga máxima desarrollada, por tanto esta última es la que se considera carga de fractura (ASTM-D412).

En Figura 41 se presentan los resultados referentes al pico de carga de todas las muestras envasadas con todos los tratamientos aplicados, observándose que durante el tiempo de almacenamiento existe una gran variabilidad en los datos siendo éste uno de los principales efectos en cuanto a la resistencia a la tracción ( $p \leq 0.05$ ).

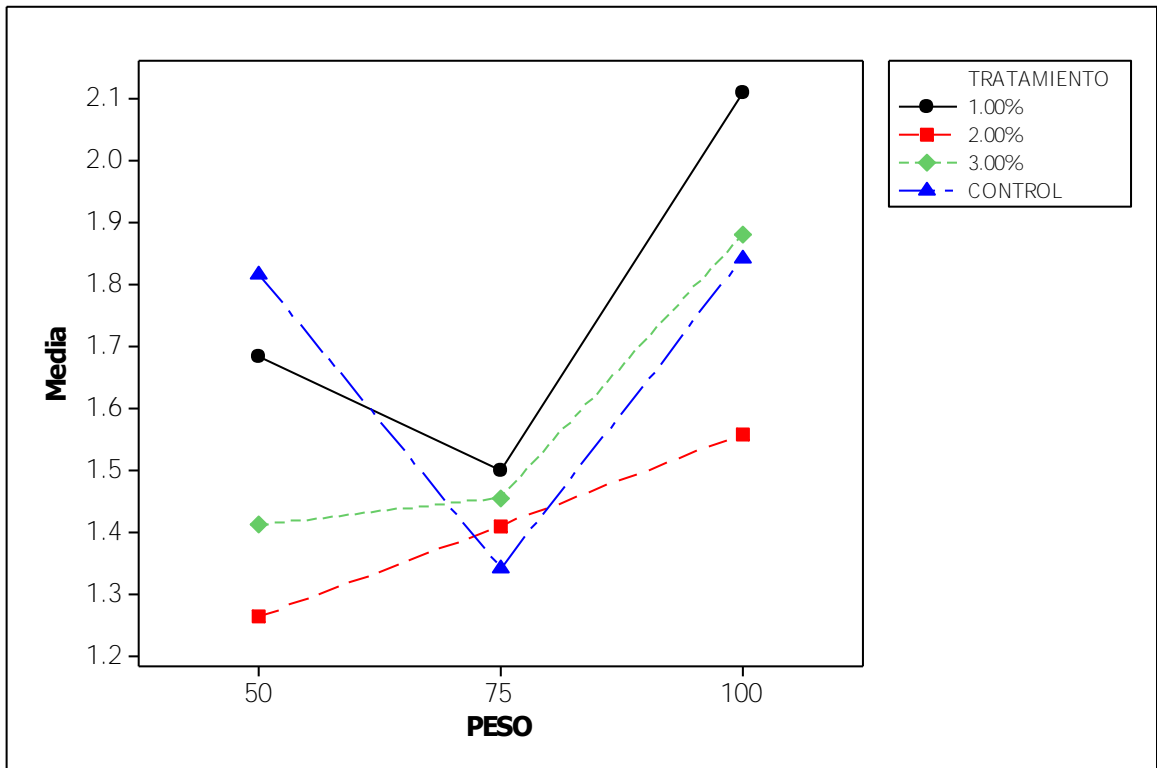


**Figura 41.** Carga máxima o resistencia a la tensión según el pico de carga (N).

En la Figura 42 se expresa la interacción tratamiento-peso de las muestras envasadas mostrando que el pico de carga con valores más bajos se obtuvo al 2 % para contenidos de bolsa de 50 y 100 g con (128.93 y 159 g) respectivamente, esto indica una mayor rigidez de la muestra que se ve reflejado en el aumento del área bajo la curva del gráfico esfuerzo vs deformación obtenido del ensayo y consecuencia de ello aumenta su elongación, esto debido a una posible pérdida de agua en el tejido vegetal y la posible lignificación del tejido por acción de la peroxidasa. El contenido de las bolsas y el tratamiento presentan una interacción significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al peso de la bolsa, se obtuvo un mayor pico de carga en las bolsas con un contenido de 100 g con 1 y 3 % de  $O_2$  obteniendo 215.27 g y 191.8 g, esto indica una menor área por lo que estas muestras obtuvieron una menor resistencia a la ruptura.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento de las bolsas envasadas a las tres diferentes capacidades con respecto a la elongación o deformación sufrida, muestra que las bolsas de 75 g de contenido presentan una mayor elongación que las bolsas de 50 y 100, estos datos coinciden con el bajo pico de carga que presentan.

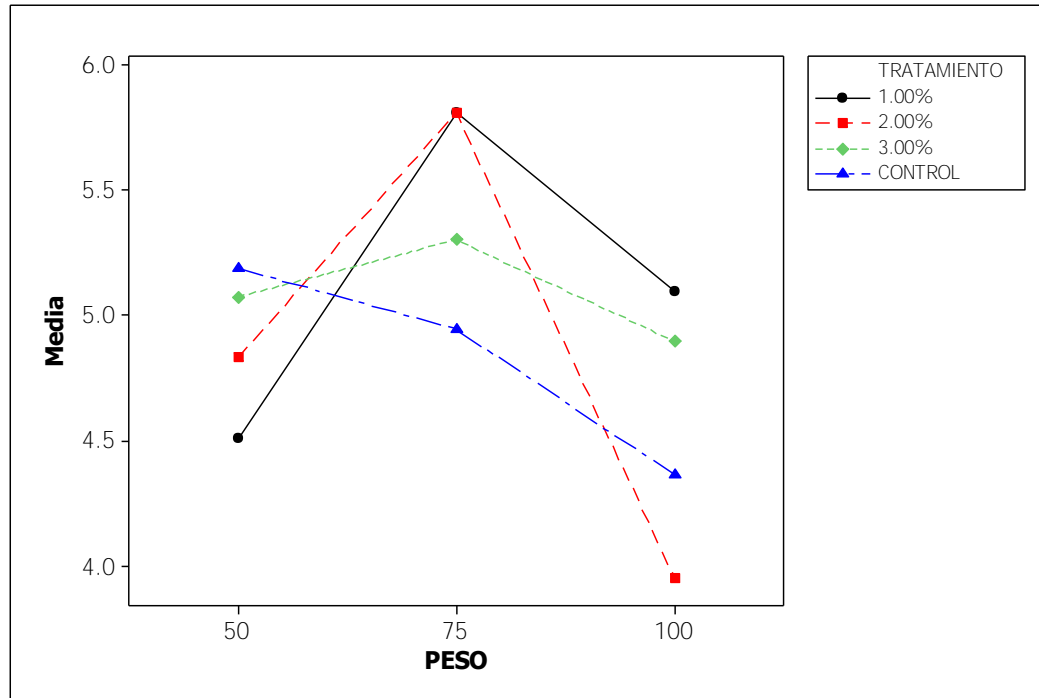


**Figura 42.** Interacciones entre el peso – tratamiento en el pico de carga (carga máxima o resistencia a la ruptura).

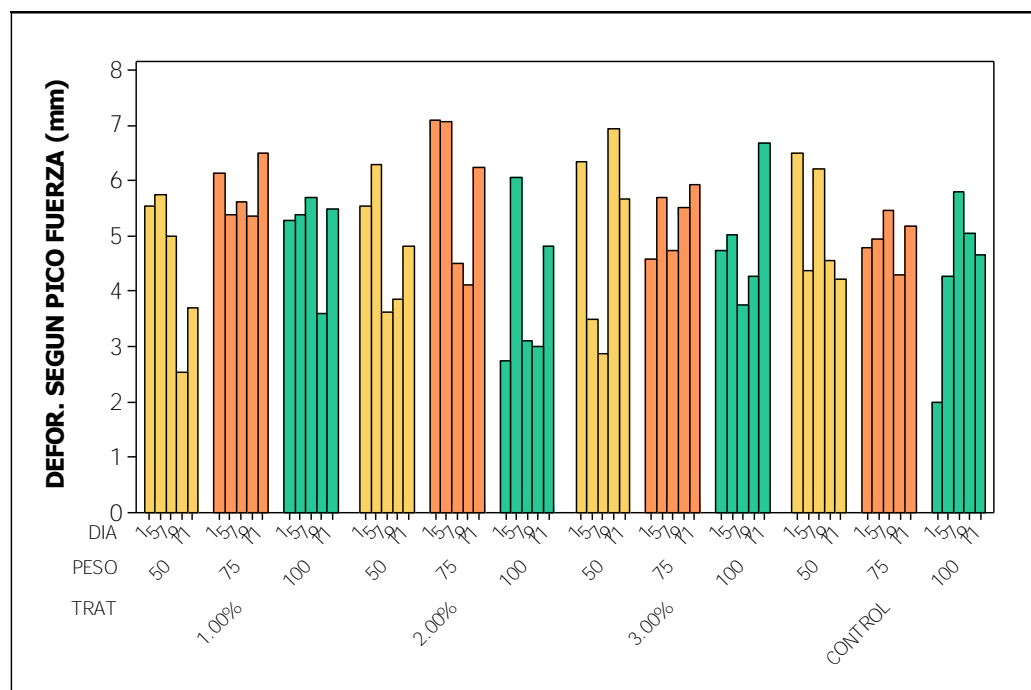
El equipo utilizado midió la resistencia a la tracción y la elongación de las muestras; esta última se presenta como la deformación según el pico de fuerza (mm). La resistencia indica cuanta tensión se necesita para romper la muestra, pero no muestra que ocurre con ella mientras se intenta fracturarla, aquí es dónde es importante destacar la elongación que representa el cambio de forma que experimenta la muestra bajo tensión. La Figura 43 expresa el comportamiento de la interacción peso-tratamiento en bolsas envasadas con respecto a la elongación o deformación sufrida, mostrando que las bolsas de 75 g presentan mayor

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

elongación que las bolsas de 50 y 100, estos valores son inversamente proporcionales con el bajo pico de carga que presentan.



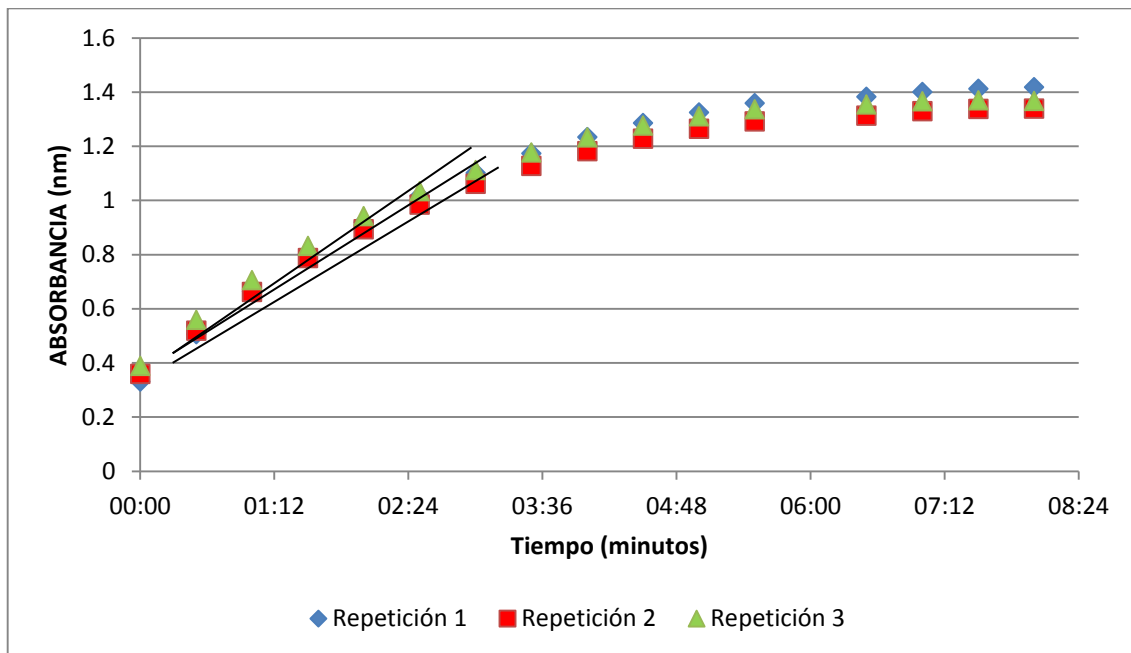
**Figura 43.** Interacciones entre el peso – tratamiento en la deformación según pico de fuerza (elongación).



**Figura 44.** Deformación según pico de fuerza (mm) en el ensayo de tensión.

### 3.6 Actividad enzimática de la peroxidasa

La velocidad de la reacción enzimática de la peroxidasa se calculó a partir de la pendiente de la zona lineal de la gráfica A470 nm vs Tiempo como se muestra en la Figura 45. Los resultados se presentan como unidades de actividad (U), que expresa la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato (guayacol) en un minuto.

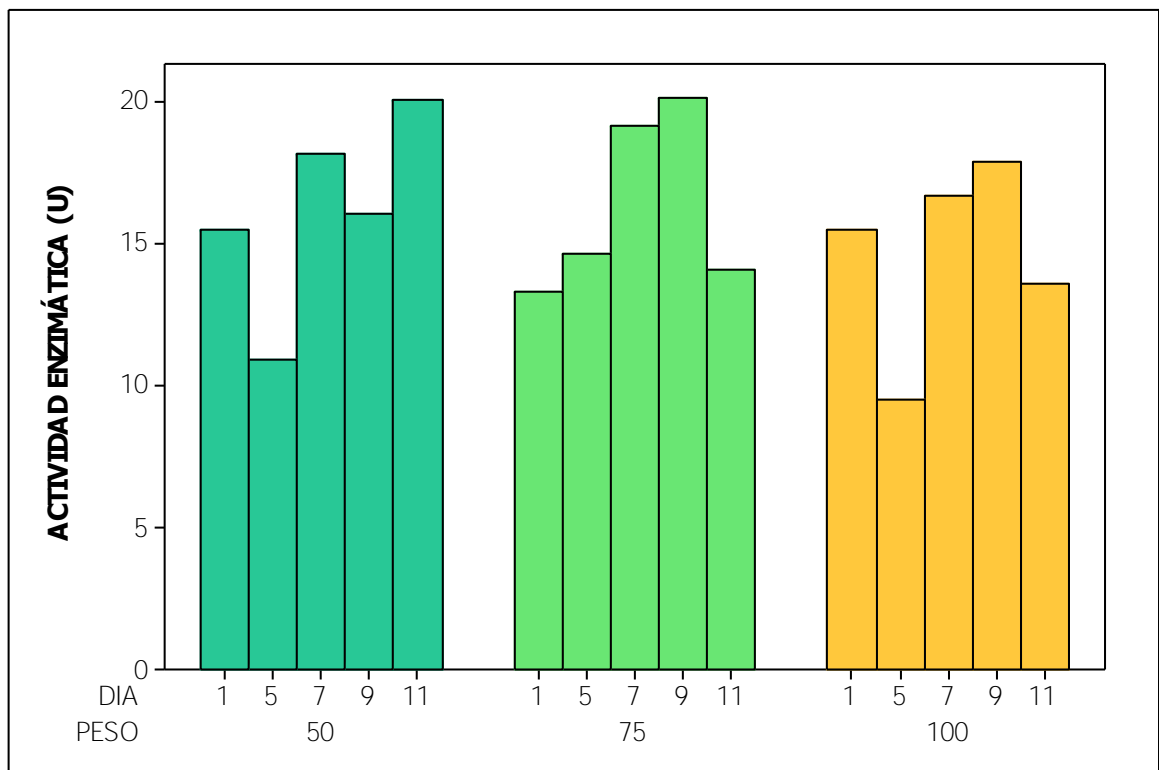


**Figura 45.** Gráfica obtenida en la lectura espectrofotométrica al día 9 de almacenamiento de una muestra control en bolsa de 75 g.

En la Figura 46 se presentan los valores de la actividad peroxidasa en función del tiempo del almacenamiento y de la capacidad de la bolsa donde se observa que el aumento de la actividad enzimática es progresivo conforme transcurren los días de almacenamiento. Como consecuencia a las lesiones sufridas por el corte, la manipulación y envasado, la actividad enzimática de la peroxidasa fue en aumento, debido al estrés debido al procesamiento que produce enlaces entre proteínas de las paredes celulares como hidroxiprolina, que se hacen insolubles y se liberan aumentando la actividad peroxidasa (Luna, 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El daño incrementa la concentración de los compuesto fenólicos, el nivel de peroxidasa y el contenido de lignina de las células adyacentes (Martínez, 2010). En las bolsas con menor capacidad en peso de lechuga su incremento podría deberse a la progresiva muerte del producto y considerando que en la senescencia los niveles de  $H_2O_2$  se incrementan, producen lisis de las vacuolas que contienen los fenoles, propiciando las condiciones adecuadas para que la actividad enzimática aumente significativamente, permitiendo así que esa actividad enzimática medida *in vitro* sea manifestada *in vivo* como el oscurecimiento enzimático. (Baquero y col., 2005).

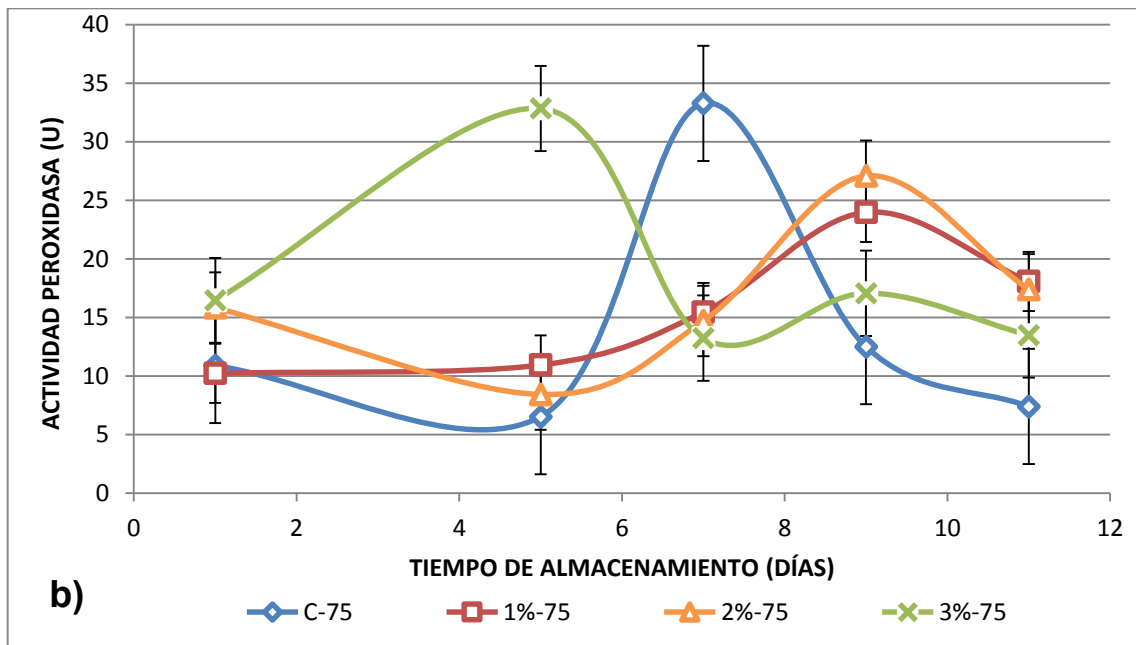
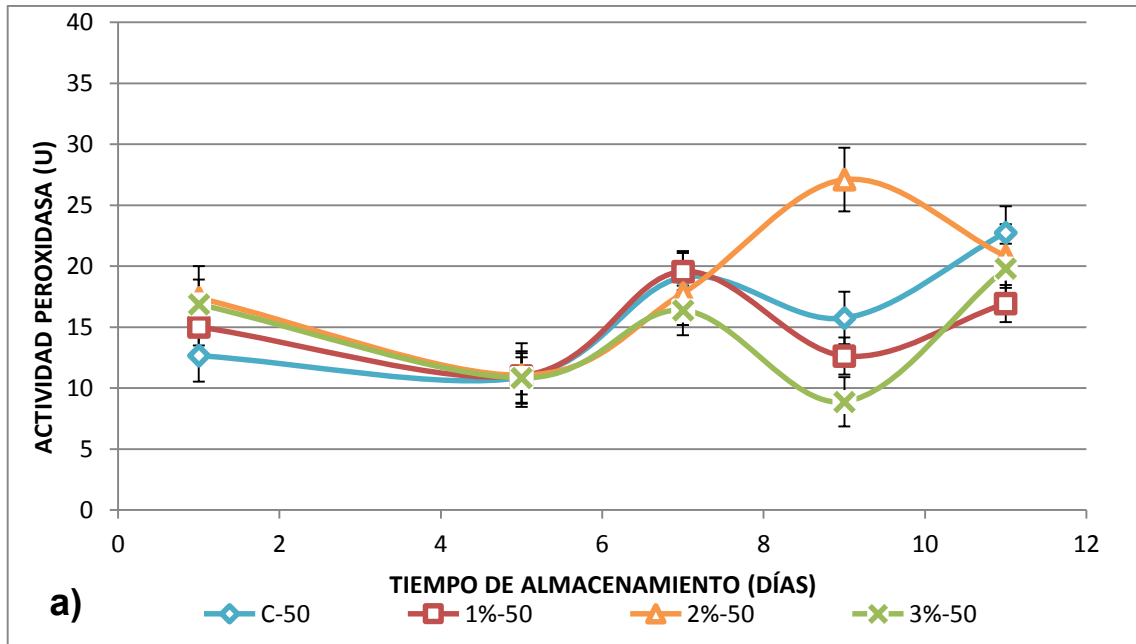


**Figura 46.** Cambios en la actividad peroxidasa en función al contenido de producto.

La Figura 47 muestra los resultados obtenidos en las que las bolsas con 50 g presentan un aumento en la actividad de la peroxidasa desde el quinto día de almacenamiento el valor más alto registrado es para las bolsas con 2 % de  $O_2$  y el más bajo se registra al 3 %. Por otro lado las bolsas de 75 g presentan diferentes

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

variaciones mostrando los valores más altos para bolsas con 50 g de producto y la actividad de enzima peroxidasa más baja es para las bolsas de 100 g de capacidad, en donde el control se mantuvo casi constante al igual que las muestras con 3 % de contenido inicial de oxígeno.





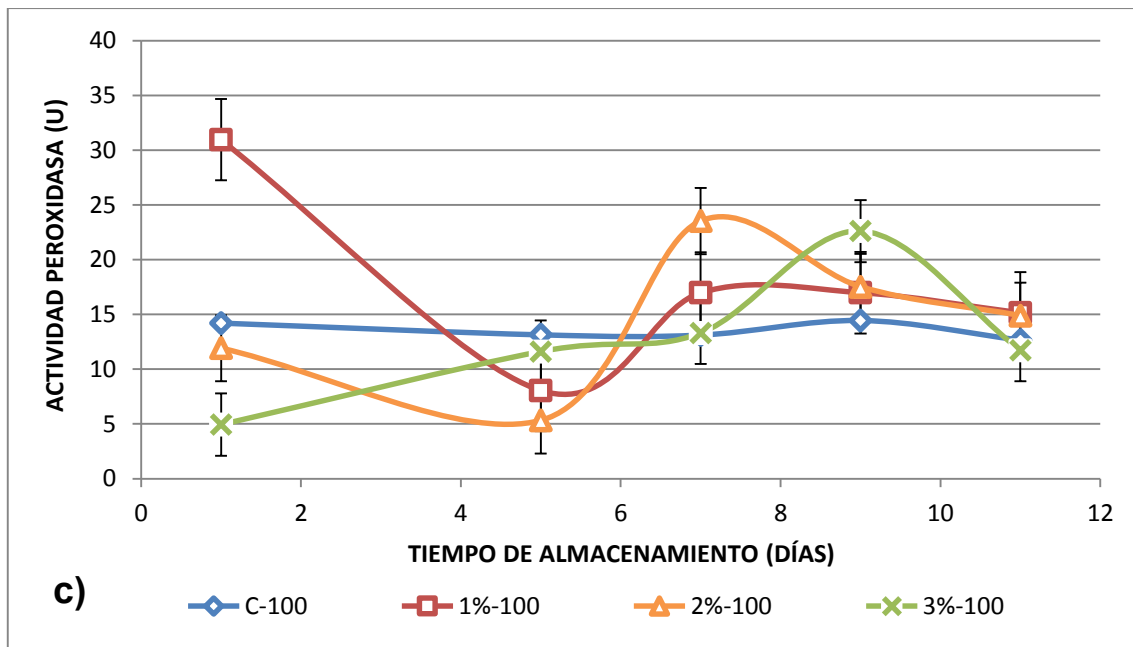


Figura 47. Cambios en la actividad POD en bolsas de a) 50, b) 75 y c) 100 g.

La actividad peroxidasa se incrementa considerablemente a los 6 días de almacenamiento, lo que coincide también con el índice de oscurecimiento ya que este se incrementó en proporción a la actividad peroxidasa, tales como el caso de las muestras de 75 y 50 g con el 2 %. Cabe destacar que varios autores atribuyen el oscurecimiento de tipo enzimático por efecto de la polifenoloxidasas y no de la peroxidasa debido a la poca disponibilidad de peróxido de hidrógeno a nivel interno, sin embargo Richard-Forget y Gailliard en 1997 citado por Luna (2012) propusieron que la PPO podría actuar como promotora de la actividad POD, por generar  $H_2O_2$  durante la oxidación de algunos compuestos fenólicos (Luna, 2012). En primer lugar la PPO genera  $H_2O_2$  dependiendo de la estructura del fenol y finalmente las quinonas generadas serán sustratos peróxido de POD, por lo que se produce un efecto sinérgico entre ambas enzimas en la aparición del oscurecimiento (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

La Figura 48, muestra el comportamiento de la actividad POD para todas las muestras con diferentes tratamientos y pesos de contenido, entre los cuales la actividad enzimática no aumenta en los primeros días de almacenamiento, si no hasta el séptimo día, este proceso de oscurecimiento y su relación con la actividad enzimática antes mencionado también estaría relacionado probablemente con su acción en el último paso de polimerización de los alcoholes cinamílicos para formar ligninas, evidenciando la responsabilidad del proceso de lignificación en el oscurecimiento de tejidos sometidos a daño mecánico y almacenamiento durante periodos determinados (Blach y col., 2007). Por otro lado, Ke y Saltveit (1989) asociaron el aumento de la actividad de la POD con la lignificación de la pared celular en respuesta al corte y estrés, porque POD está implicada en la vía de la lignina-específica (Chisari y col., 2010). El incremento de la actividad enzimática de la peroxidasa en las muestras de 1 y 2 % con el contenido de bolsa de 50 y 75 g explica el comportamiento textural de las mismas al presentar una dureza mayor a la de las muestras de 3 %-100 g; esto atribuido que la alta actividad de esta enzima es responsable del proceso de lignificación y de la protección contra el deterioro de tejidos causados por las lesiones de corte; el incremento de la actividad peroxidasa es característico como defensa de la lechuga al estrés provocado.

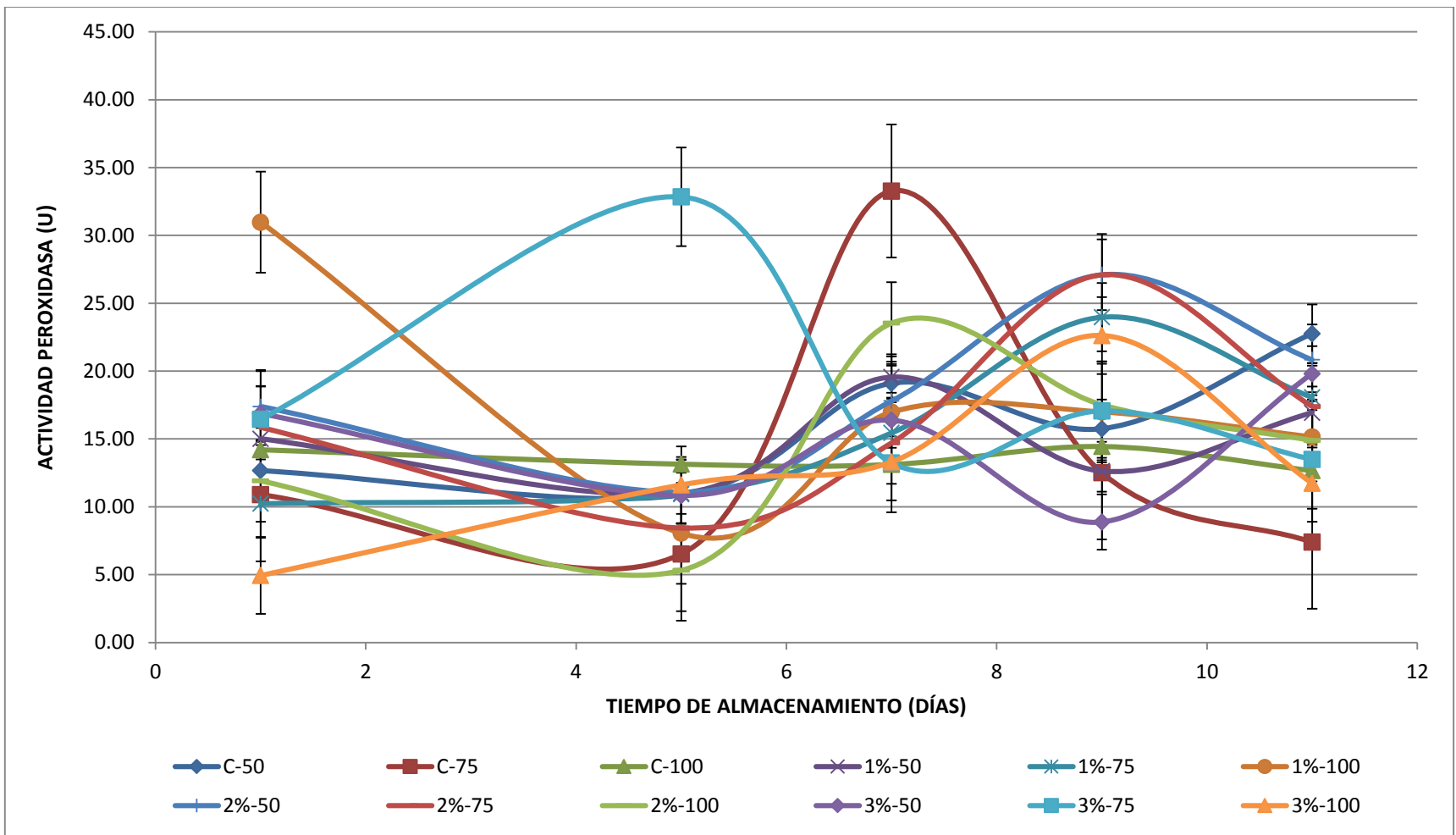


Figura 48. Actividad POD de lechuga Iceberg en atmósfera modificada durante 11 días.

El hecho que la actividad POD esté directamente relacionada con el oxígeno disponible del medio explica porque el producto almacenado en bolsas de 50 y 75 g que son las que presentan mayor cantidad de oxígeno, muestren un mayor índice de oscurecimiento contrario a lo que ocurre en atmósfera modificada (3 %) evidenciando así la eficacia de este tratamiento que ayuda en la disminución del oscurecimiento enzimático al minimizar el contacto del producto fresco cortado con el oxígeno, esto coincide con el estudio realizado por Blach y col. (2007) con productos frescos-cortados en atmósfera modificada, es decir a medida que el envase evite el contacto directo de la lechuga con el oxígeno, disminuye el efecto del oscurecimiento durante el tiempo de almacenamiento.

### CONCLUSIONES

- En este estudio fue posible comprobar la efectividad del uso de un envasado en atmósfera modificada para la conservación de lechuga mínimamente procesada en tres propuestas de capacidad de envase, obteniendo que el tratamiento con mayor eficiencia y menor daño en las muestras fueron las de 3 % de O<sub>2</sub> y 2 % de CO<sub>2</sub>. Las muestras de lechuga envasadas en atmósfera modificada presentaron un menor deterioro y aumento de vida útil que las envasadas en atmósfera pasiva (muestras control).
- Se determinaron las variaciones del color mediante el análisis de imagen y se demostró que esta es una herramienta fiable para la obtención objetiva y cuantitativa de los parámetros de color sobre la calidad y vida útil de la lechuga Iceberg, la cual no presentó variaciones significativas en las coordenadas de cromaticidad (L, a\* y b\*), Croma pero sí en el índice de oscurecimiento y ángulo Hue producto de la actividad enzimática; obteniendo un menor oscurecimiento en las muestras envasadas con 3% de O<sub>2</sub> y 2 % de CO<sub>2</sub>.
- Mediante los ensayos de punción y tensión, fue posible el análisis de la textura de la lechuga Romana obteniendo que las muestras con 3 % de O<sub>2</sub> - 2 % de CO<sub>2</sub> presentaron menor firmeza mientras que las muestras control y 1% O<sub>2</sub> que presentaron un endurecimiento la pérdida de agua debido a la alta tasa de transpiración que presenta y a la polimerización de la lignina como defensa de la planta al sufrir un estrés por corte.
- Se propusieron tres capacidades de llenado de bolsa para envasar lechuga en atmósfera modificada, de la cual, con la bolsa de 100 y 75 g se obtuvieron resultados favorables para su conservación, con la concentración de gases antes mencionada.

## CONCLUSIONES

---

- Producto de la actividad respiratoria y los cambios derivados de ella, aunado a lo percedero del producto por las lesiones de corte y manipulación, el tiempo de vida útil estimado para la lechuga envasada en atmósfera modificada activa es de 7 días con 3 % de oxígeno y 2 % de dióxido de carbono, ya que a esta concentración se logra preservar la textura y el color durante este periodo de tiempo, a comparación de las muestras control que a los 7 días presentan un alto índice de oscurecimiento y firmeza de los tejidos que lo hace desagradable para el consumidor.
- El precio unitario de las bolsas de 50, 75 y 100g a las diferentes concentraciones se encuentra entre 3 y 7 pesos, haciendo de este un producto rentable para su venta como porciones individuales de lechuga en IV gama, esto no considera el costo de inversión de los equipos.

### RECOMENDACIONES

- En futuras investigaciones se recomienda, ampliar el estudio de las enzimas como la polifenoloxidasa y fenilalanina amonio liasa presentes en la lechuga.
- En la determinación de la actividad enzimática, cuantificar la proteína por el método de Lowry, con el fin de contar con resultados más precisos a los presentados en este trabajo.
- La bolsa PD-960 de CRYOVAC® se recomienda por ser de un material de alta permeabilidad al O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y al etileno aumentando así la vida útil del producto a envasar, así como presentar poca opacidad que permite una mejor observación del producto por parte del consumidor.

### BIBLIOGRAFÍA

- Altunkaya, A., & Gökmen, V. (2011). Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase, Peroxidase and Lipoxygenase from Freshly cut Lettuce (L.Sativa). *Food Technology and Biotechnology*, 49(2), 249-256.
- Ares, G., Lareo, C., & Lema, P. (2008). Sensory Shelf-life of Butterhead Lettuce Leaves in Active and Passive Modified Atmosphere Packages. *International Journal of Food Science and Technology*(43), 1671-1677.
- Artés Calero, F. (2006). El Envasado en Atmósfera Modificada Mejora la Calidad de Consumo de los Productos Hortofrutícolas Intactos y Mínimamente Procesados. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(2), 61-85.
- Arthey, D., Dennis, C., & Maluenda, P. (1992). *Procesado de Hortalizas*. España: Acribia.
- ASTM-D412. (1969). *American Society for Testing and Materials: Standar Test Methods for Vulcanized Rubber and Thermoplastic Elastomers-Tension*. USA.
- Alia-Tejacal, I., Colinas L, M. T., Martínez D, M. T., & Soto H, M. R. (2002). Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (Pouteria sapota Jacq. HE Moore & Stearn) durante postcosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 8(2), 263-281.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Prentice Hall.
- Baquero-Duarte, L. E., Castro Rivera, J. A., & Narváz Cuenca, C. E. (2005). Catalasa, Peroxidasa y Polifenoloxidasa en Pitaya Amarilla (Acanthocereus pitajaya): Maduración y Senescencia. *Acta Biología Colombiana*, 10(2), 49-59.
- Barreiro, J. A., & Sandoval B., A. J. (2006). *Operaciones de Conservación de Alimentos por Bajas Temperaturas*. Venezuela: Equinoccio.
- Barreiro, P., & Ruiz-Altisent, M. (1996). Propiedades Mecánicas y Calidad de Frutos. Definiciones y Medidas Instrumentales. *Frutícola Profesional*(77), 48-51.



## BIBLIOGRAFÍA

---

- Baur, S., Klaiber, R., Wei, H., Hammes, W. P., & Carle, R. (2005). Effect of Temperature and Chlorination of Pre-washing Water on Shelf-life and Physiological Properties of Ready to use Iceberg Lettuce. *Innovative Food Science*(6), 171-182.
- Bayindirli, A. (Ed.). (2010). *Enzymes in Fruits and Vegetables Processing: Chemistry and Engineering Applications*. USA: CRC Press.
- Behrsing, J., Winkler, S., Franz, P., & Premier, R. (2000). Efficacy of chlorine for inactivation of Escherichia Coli on vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 187-192.
- Blach Vargas, D., Pinzón Fandino, M. I., & Donado Marceleano, J. (2007). Evolución del Color y Actividad Enzimática (Polifenoloxidasay Peroxidasa) en Rodajas de Carambolo (Averrhoa Caramola L.) Fresco-cortado durante su Almacenamiento en Atmósfera Modificada. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(2), 127-129.
- Bobadilla Soto, E. E., Rivera Morrejón, G., & Del Moral Barrera, L. E. (2010). Factores de Competitividad al cultivo de lechuga en Santa María Jajalpa, Estado de México. *Análisis Económico*, XXV(59).
- Bofelli, E., & Sirtori, G. (2007). *Las Lechugas*. (N. Nueno Cobas, Trad.) México: De Vecchi.
- Bureau, G., & Multon, J. (1995). *Embalaje de los Alimentos de Gran Consumo*. España: Acribia.
- Burnette, F. S. (1977). Peroxidase and its Relationship to Food Flavor and Quality: A Review. *Journal of Food Science*(42), 1-6.
- Caivano, J. L., & Bueva, M. d. (Edits.). (2012). *Color in food "Technological and Psychophysical Aspect"*. USA: CRC Press.
- Cantwell, M., & Suslow, T. (2002). *Lettuce Crisphead: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. Obtenido de <http://postharvest.ucdavis.edu/pfvegetable/LettuceCrisphead/>
- Castañer, M., Gil, M., Artés, F., & Tomás-Barberán, F. (1996). Inhibition of Browning of Harvested Head Lettuce. *Journal of Food Science*, 61(2), 314-316.
- Cefola, M., D'Antuono, I., Pace, B., Calabrese, N., Carito, A., Linsalata, V., & Cardinali, A. (2012). Biochemical Relationships and Browning Index for

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Assessing the Storage Suitability of Artichoke Genotypes. *Food Reserch International*, 48, 397-403.
- Chandra, D., Matsui, T., Suzuki, M., Kosugi, Y., Fujimura, K., & Kumar Bhowmik, P. (2010). Textural and Compositional Changes of Stored Iceberg Lettuce in Relation to Harvest Season and Storage Condition. *International Journal of Vegetable Science*(16), 44-59.
- Chauhan, O., Raju, P., Navi, N., Singh, A., & Bawa, A. (2011). Effectiveness of Ozone in Combination with Controlled Atmosphere on Quality Characteristics Including Lignification of Carrot Sticks. *Journal of Food Engineering*(102), 43-48.
- Chisari, M., Todaro, A., Barbagallo, R. N., & Spagna, G. (2010). Salinity Effects on Enzymatic Browning and Antioxidant Capacity of Fresh-cut Baby Romaine Lettuce (*Lactuca Sativa* L.Cv. Duende). *Food Chemistry*(119), 1502-1506.
- Davis, R. M., Subbarao, K. V., Raid, R. N., & Kurtz, E. A. (2002). *Plagas y Enfermedades de la Lechuga*. México: Mundi-Prensa.
- Del Nobile, M., Baiano, A., Benedetto, A., & Massignan, L. (2006). Respiration rate of minimally processed lettuces affected by packaging. *Journal of Food Engineering*, 74, 60-69.
- Deza-Durand, K. M., & Argelin Peterson, M. (2011). The effect of Cutting Direction on Aroma Compounds and Respiration Rate of Fresh-cut Iceberg Lettuce (*L. Sativa* L.). *Postharvest Biology and Technology*(61), 83-90.
- Durá de Miguel, A. (2010). *Modelización de la Tasa Respiratoria de Caqui Rojo Brillante*. España: Tesis de Maestría: Universidad Politécnica de Valencia.
- FAO. (1987). *Departamento de Agricultura. Manual para el Mejoramiento del Manejo Postcosecha de Frutas y Hortalizas (PARTE I)*. FAO.
- FAO. (2006). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*. Recuperado el Octubre de 2012, de Fichas técnicas: Productos Frescos y Procesados: [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/LECHUGA.HTM](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/LECHUGA.HTM)
- FAOSTAT. (2011). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Recuperado el 20 de Octubre del 2012, de <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es>

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Fujita, S., Tono, T., & Kawahara, H. (1991). Purification and Properties of Polyphenol Oxidase in Head Lettuce (*Lactuca Sativa*). *Journal of Science of Food Agriculture*(55), 643-651.
- González-Aguilar, G. A., Cuamea-Navarro, F., & Gardea, A. A. (2005). *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos-cortados*. México: CIAD,AC.
- González, M., & Lobo, M. G. (2000). *Composición de Frutas y Hortalizas: Componentes nutricionales, fibra y compuestos fitoquímicos*. España: Instituto Canario de Investigaciones Agrícolas.
- Gómez Cruz, M. A., Schwentesirs Rindermann, R., & Merino Sepúlveda, A. (1991). *El Consumo de Hortalizas en México. Reporte de Investigación 07*. México: CUESTAAM/UACH.
- Gras, M. L., Vidal-Brotons, D., & Vázquez-Fottes, F. A. (2011). Production of 4th Range Iceberg Lettuce Enriched with Calcium. Evaluation of Some Quality Parameters. *Procedia Food Science*(1), 1534-1539.
- Guevara, J. C. (2010). *Empacado de Alimentos*. México: Trillas.
- Hardenburg, R. (1971). Effect in Package Environment on Keeping Quality of Fruits and Vegetables. *HortScience*, 6(3), 198-201.
- Hernández, M., & Sastre Gallego, A. (1999). *Tratado de Nutrición*. España: Edición Díaz de Santos.
- Hernández Romero, A. S. (2006). *Evaluación de la Actividad Peroxidasa y Polifenoloxidasa en dos Variedades de Fresa (*Fragaria xananassa* var. Chandler y Charlie) Durante Estrés por Bajas Temperaturas*. Colombia: Tesis de Licenciatura de Biología: Universidad Nacional de Colombia.
- Horev, B., Sela, S., Vinokur, Y., Gorbatshevich, E., Pinto, R., & Rodov, V. (2012). The effect of Active and Passive Modified Atmosphere Packaging on the Survival of *Salmonella Enterica* Serotype Typhimurium on Washed Romaine Lettuce Leaves. *Food Research International*(45), 1129-1132.
- INFOAGRO. (2008). *El cultivo de la Lechuga*. Obtenido de: <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., & Brulé, G. (2006). *Ciencia de los Alimentos: Bioquímica- Microbiología- Procesos-Productos*. España: Acribia.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Lamikanra, O. (Ed.). (2002). *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, technology and Market*. USA: CRC Press.
- Lareo, C., Ares, G., Fernando, L., Lema, P., Gámbaro, A., & Soubes, M. (2009). Influence of Temperature on Shelf-life of Butterhead Lettuce Leaves under Passive Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Quality*(32), 240-261.
- Lipton, W., & Ryder, E. (1981). *Quality and Preservation of Vegetables*. USA: CRC Press Inc.
- Lobo, G., & González, M. (Edits.). (2003). *Productos Hortofrutícolas Mínimamente Procesados*. España: Instituto Canario de Investigaciones Agrarias.
- Luna Riguelme, M. C. (2012). *Tesis doctoral: Influencia de los Factores Pre y Postcosecha en la calidad de la lechuga IV Gama*. España: Universidad de Murcia.
- Luna, M. C., Tudela, J. A., Martínez-Sánchez, A., Allende, A., Marín, A., & Gil, M. I. (2012). Long-term Deficit and Excess of Irrigation Influences Quality and Browning Related Enzymes and Phenolic Metabolism of Fresh-cut Iceberg Lettuce (L.Sativa). *Postharvest Biology and Technology*(73), 37-45.
- Luna, M. C., Tudela, J. A., Martínez-Sánchez, A., Allende, A., & Gil, M. I. (2013). Optimizing Water Management to Control Respiration Rate and Reduce Browning and Microbial Load of Fresh-cut Romaine Lettuce. *Postharvest Biology and Technology*(80), 9-17.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Barry-Ryan, C., Frias, J. M., Mulcahy, J., & Menehan, G. T. (2005). Calcium Lactate washing treatments for salad-cut Iceberg lettuce: Effect of temperature and concentration on quality retention parameters. *Food Research International*(38), 729-740.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Frías, J., Henahan, G., Mulcahy, J., Barat, J., & Barry-Ryan, C. (2006). Effect of Calcium Lactate and Heat-shock on Texture in Fresh-cut Lettuce During Storage. *Journal of Food Engineering*(77), 1069-1077.
- Martínez López, J. A. (2010). *Tesis doctoral: Optimización del Envasado en Atmósfera Modificada de la Lechuga*. España: Universidad de Murcia, Cartagena.
- Martínez, J., & Artés, F. (2005). Nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de gases a través de membranas poliméricas. Aplicación a la técnica de

## BIBLIOGRAFÍA

---

- envasado de productos hortofrutícolas en atmósfera modificada. *III Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB)*, (págs. 231-240). España.
- Martínez-Sánchez, A., Tudela, J. A., Luna, C., Allende, A., & Gil, M. I. (2011). Low Oxygen Levels and Light Exposure Affect Quality of Fresh-cut Romaine Lettuce. *Postharvest Biology*(59), 34-42.
- Mathewson, P. R. (1998). *Enzymes*. USA: Eagan Press.
- Mónaco, E., Chiesa, A., Trincherò, G., & Frascina, A. (2005). Selección de películas poliméricas para su empleo con lechuga en atmósfera modificada. *Revista de Investigación Agropecuaria*, 34(1), 59-70.
- Montero Hernández, B. G. (2002). *Atmósferas Modificadas para el Almacenamiento de Hortalizas de Hoja*. México: Tesis de Licenciatura de Ingeniería en Alimentos.
- Montero Morales, C. (2004). *Alimentación y la vida saludable ¿somos lo que comemos?* España: Universidad Pontificia Comillas de Madrid.
- Nagodawithana, T. W. (1993). *Enzymes in Food Processing* (3 ed.). USA: Academic Press Inc.
- Negrete, A. A. (2001). *Envase y embalaje de alimentos "Análisis de la selección de una película plástica para envasar pan plano en atmósferas modificadas"* Tesis de Licenciatura de Ingeniería en Alimentos. México.
- NMX-FF-051-1982. (s.f.). Productos Alimenticios no Industrializados Para Uso Humano- Hortalizas en Estado Fresco.Lechuga.
- Nollet, M. (Ed.). (2004). *Handbook of Food Analysis* (2da ed.). USA: Marcel Dekker, Inc.
- Padrón Pereira, C. A. (2009). Sistema de Visión Computarizada y Herramientas de Diseño. *Agronomía Costarricense*, 32, 283-301.
- Parry, R. (Ed.). (1993). *Envasado de los Alimentos Atmósferas Modificadas*. España: A. Madrid Vicente.
- Pereyra González, A., Burin, L., & Buera, M. d. (1999). Color changes during storage of honey in relation to their composition and initial color. *Food Reserch International*(32), 185-191.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Reuveni, R., Shimoni, M., & Crute, I. (1991). An Association Between High Peroxidase Activity in Lettuce (*Lactuca sativa*) and Field Resistance to Downy Mildew (*Bremia lactucae*). *J. Phytopathology*, 132, 312-318.
- Rodriguez, V. M., & Simón, E. (2008). *Bases de la Alimentación Humana*. España: Netbiblio.
- Roudot, A.-C. (2004). *Reología y análisis de la textura de los alimentos*. España: Acribia.
- Sáenz, C., & Berger, H. (2006). Utilización Agroindustrial del nopal- Volumen 162 de Boletín de servicios Agrícolas de la FAO. Italia: Food and Agriculture Org.
- Salunkhe, D., & Kadam, S. (2004). *Tratado de Ciencia y Tecnología de las Hortalizas "Producción, composición almacenamiento y procesado"*. España: Acribia.
- Salunkhe, D.K, Bolin, H.R, Reddy, & N.R. (1991). *Storage Processing and Nutritional Quality of Fruits and Vegetables* (Vol. II). USA: CRC Press.
- San Román, A. A. (1997). *Atmósfera Modificada una Alternativa de Conservación para Frutas y Hortalizas. Tesis de licenciatura de Ingeniería en Alimentos*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- Schmidt Hebbel, H., & Pennacchiotti Monti, I. (2001). *Las Enzimas en los Alimentos. Su Importancia en la Química y la Tecnología de los Alimentos*. Chile: Biblioteca Digital de la Universidad de Chile.
- Siriphanich, J., & Kader, A. (1985). Effects of CO<sub>2</sub> on Total Phenolics, phenylalanine Ammonia Lyase and Polyphenol Oxidase in Lettuce Tissue. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110(2), 249-253.
- Thompson, A. K. (2003). *Almacenamiento en Atmósferas Controladas de Frutas y Hortalizas*. (A. Ibarz, & J. Pagan, Trads.) España: Acribia.
- Tirilly, Y., & Bourgeois, C. M. (2001). *Tecnología de las Hortalizas*. España: Acribia.
- Toivonen, P. M., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*(48), 1-14.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2001). Phenolic Compounds and Related Enzymes as Determinants of Quality of Fruits and Vegetables. *Journal of the Science and Food and Agriculture*(81), 853-876.
- Toole, G., Parker, M., Smith, A., & Waldron, K. (2000). Mechanical properties of Lettuce. *Journal of Material Science*(35), 3553-3559.
- Vallejo Cabrera, F. A., & Estrada Salazar, É. I. (2004). *Producción de Hortalizas de Clima Cálido*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira.
- Vámos-Vigyázó, L. (1981). Poliphenoloxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables. *Critical Review of Food Science Nutrition*, 15(1), 49-127.
- Walti-Chanes, J., Verdara-Balderas, F., Guerrero-Beltrán, R., Torres, G., & Villas-Rojas, R. (Septiembre de 2005). Métodos, Criterios y Modelación para la Selección de Películas Plásticas en Atmósferas Modificadas. Segundo Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos. Montevideo, Uruguay.
- Whitaker, J. R., Voraĝen, A., & Wong, D. W. (2003). *Handbook of Food Enzymology*. USA: Marcel Dekker, Inc.
- Wiley, R. C. (1997). *Frutas y Hortalizas Minimamente Procesadas y Refrigeradas*. (J. Fernández-Salguero, Trad.) España: Acribia.
- Wills, R., McGlasswon, W., Graham, D., Lee, T., & Hall, E. (1989). *Postharvest. An introduction to the Physiology and Handling of Fruits and Vegetables*. USA: New South Wales.
- Zapata, M. (1996). *Nuevas Tecnologías de Conservación de Frutas y Hortalizas: Atmósferas Moficadas*. México: Mundi-Prensa.