



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Efecto del pretratamiento con etileno y envasado en atmósferas modificadas
activas en la vida útil del germen de alfalfa”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

ANGELICA VARGAS BUREOS

ASESORES:

DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA

I.A. ALFREDO ÁLVAREZ CÁRDENAS

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

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



**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe 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

Efecto del pretratamiento con etileno y envasado en atmósferas modificadas activas en la vida útil del germen de alfalfa

Que presenta la pasante: Angélica Vargas Bureos
Con número de cuenta: 410078800 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 08 de Agosto de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Elena Vargas Ugalde	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza	
1er. SUPLENTE	I.A. Manuel Alarcón López	
2do. SUPLENTE	I.A. Ricardo Moisés González Reza	

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

Este trabajo fue financiado con el apoyo del proyecto de investigación interna: PIAPIC06 "Evaluación y diseño de sistemas nanoparticulados para la conservación refrigerada y/o congelada de productos de origen vegetal".

AGRADECIMIENTOS

A mis Padres, que siempre estuvieron ahí para apoyarme y aceptar mis decisiones y gracias a su esfuerzo termine una carrera, por esto y mucho más: gracias, este trabajo también es de ustedes. Los quiero Mucho.

A mis hermanos Luis y Jaime que siempre me comprendieron y me apoyaron, muchas gracias los quiero mucho.

A una persona muy especial, que me ha apoyado en todo, que estuvo conmigo en los mejores y malos momentos de esta etapa, que siempre ha estado para mí y que se que nunca me dejara sola, gracias Sergio Jiménez.

A mis amigos de la Preparatoria (Mario, Juan A. y Antonio), quienes directa o indirectamente siempre han estado conmigo, Gracias.

A mis amigos y compañeros de la Universidad, Paola, Valeria, Virginia, Jorge Luis y Brian, gracias por dejarme compartir esta etapa con ustedes, gracias por las risas, el apoyo y la ayuda que siempre me brindaron.

A una persona muy risueña del Taller Multidisciplinario de Procesos y Sistemas Frigoríficos, gracias a ella aprendí que nunca hay que rendirse a pesar de las adversidades y que siempre hay que ver las cosas con buena cara, gracias Aidee Nájera.

A la Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza y al I.A Alfredo Álvarez Cárdenas, por sus enseñanzas, paciencia y por guiarme en este camino para lograr un solo objetivo, ser Ingeniera en Alimentos.

A mis abuelos, tíos y toda mi familia que siempre me brindo su apoyo moral y sus mejores deseos para lograr este objetivo. Pero en especial a mi tía Yolis, porque yo se que en donde este siempre me va a cuidar, te quiero mucho Tía.

A todos los Profesores que siempre me alentaron a seguir adelante y que aunque pareciera difícil la situación siempre se podía seguir adelante.

Y finalmente, pero no menos importante, a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por brindarles a los jóvenes la oportunidad de llegar ser Profesionales. Gracias por permitirme ser parte de su gran familia, pero en especial ser siempre un PUMA de corazón y orgullosamente UNAM.

Angélica Vargas Bureos

“Por mi raza hablará el espíritu”

José Vasconcelos

ÍNDICE

RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	ix
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES	1
1.1 Germen de alfalfa y sus características	1
1.2 Respiración y transpiración	4
1.3 Efecto del etileno en productos frescos	6
1.3.1 Síntesis y acción del etileno	7
1.3.2 Métodos de aplicación de etileno	10
1.4 Atmósferas modificadas	10
1.4.1 Tipos de atmósferas	11
1.4.2 Atmósfera en equilibrio	12
1.4.3 Importancia del envasado en atmósferas modificadas	13
1.4.4 Películas utilizadas	16
1.4.5 Gases utilizados en atmósferas modificadas	18
1.4.6 Factores que influyen en atmósferas modificadas	21
1.4.7 Factores de la atmósfera modificada sobre la intensidad respiratoria	22
1.4.8 Ventajas y desventajas	23
1.5 Factores que afectan a la velocidad de respiración	24
1.5.1 Influencia de la temperatura	26
1.5.2 Efecto de atmósferas modificadas sobre la biosíntesis y acción del etileno	27
1.6 Importancia de la vida útil	27
1.6.1 Desarrollo de modelos matemáticos	28
1.6.2 Cinética de reacción básica	29

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	31
2.1 Problema	31
2.2 Objetivos	31
2.3 Selección y justificación de variables	32
2.4 Materiales y métodos	33
2.4.1 Acondicionamiento del frigorífico	33
2.4.2 Material biológico y su pretratamiento	34
2.4.3 Envasado en atmósferas modificadas	34
2.4.4 Pérdida de peso	36
2.4.5 Determinación de la velocidad de transpiración	36
2.4.6 Textura (Firmeza)	37
2.4.7 Determinación de color	38
2.4.8 Determinación de pH	38
2.4.9 Índice de decaimiento	39
2.5 Modelo cinético de transpiración	40
2.6 Tratamiento estadístico	40
CAPÍTULO III: ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
3.1 Determinación de pérdida de peso	41
3.2 Determinación de la velocidad de transpiración	45
3.3 Textura (Firmeza)	50
3.4 Determinación de color	54
3.5 pH	64
3.6 Índice de decaimiento	66
3.7 Modelo cinético de transpiración	69
CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFÍA	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química y nutricional de germen de alfalfa	1
Tabla 2. Tasa de respiración y H.R. de germen	3
Tabla 3. Respuestas de la planta al etileno	7
Tabla 4. Intensidad de la transmisión de O ₂ y vapor de agua de materiales de envasado seleccionados para frutas y hortalizas	15
Tabla 5. Selección de variables	33
Tabla 6. Hoja técnica del envase de media barrera	35
Tabla 7. Condiciones de la prueba de firmeza para el germen de alfalfa	37
Tabla 8. Escala hedónica para el germen de alfalfa	40
Tabla 9. Ajuste cinético de primer orden de la velocidad de transpiración	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Germinación de la semilla	2
Figura 2. Biosíntesis del etileno y ciclo de Yang	8
Figura 3. Plántula de guisante	9
Figura 4. Variaciones del ambiente gaseoso en envases con productos metabólicamente activos bajo una atmósfera modificada	11
Figura 5. Acondicionamiento del frigorífico	33
Figura 6. Lavado de la materia prima (germen de alfalfa)	34
Figura 7. Envasado del germen de alfalfa	35
Figura 8. Balanza Digital	36
Figura 9. Método estático para determinar la velocidad de transpiración	37
Figura 10. Texturómetro Brookfield	37
Figura 11. Caja oscura	38
Figura 12. Potenciómetro HANNA 213	39
Figura 13. Microscopio digital	39
Figura 14. Pérdida de peso de las muestras durante el almacenamiento	42
Figura 15. Velocidad de transpiración en germen de alfalfa	47
Figura 16. Efectos principales sobre la velocidad de transpiración	48
Figura 17. Cambios de firmeza en el germen de alfalfa durante el almacenamiento	51
Figura 18. Efectos principales de la firmeza en el germen de alfalfa	52
Figura 19. Cambio de color en el germen de alfalfa	55
Figura 20. Cambio de Luminosidad (L*) del germen de alfalfa durante el	58

almacenamiento

Figura 21. Efectos principales de L^* en el germen de alfalfa durante el almacenamiento 59

Figura 22. Cambio del parámetro a^* en germen de alfalfa durante el almacenamiento 61

Figura 23. Cambio del parámetro b^* en germen de alfalfa durante el almacenamiento 63

Figura 24. Cambio de pH durante el tiempo de almacenamiento 65

Figura 25. Índice de decaimiento del germen de alfalfa durante el almacenamiento 68

Figura 26. Ecuación de Arrhenius de la velocidad de transpiración de germen de alfalfa 69

NOMENCLATURA

a^*	Parámetro a^* (rojo-verde)
a_f	Parámetro a^* final
a_i	Parámetro a^* inicial
AM	Atmósfera modificadas
AME	Atmósferas modificadas más Etileno
b^*	Parámetro b^* (amarillo-azul)
b_f	Parámetro b^* final
b_i	Parámetro b^* inicial
C	Factor de calidad
C_i	Factor de calidad inicial
C_o	Factor de calidad al tiempo cero
CO ₂	Concentración de dióxido de carbono, %
CTRL	Control
C ₂ H ₄	Etileno
(CH ₂ O) ₆	Glucosa
E_a	Energía de activación, kJ mol ⁻¹
HR	Humedad relativa, %
H ₂ O	Agua
K	Constante de velocidad de reacción, h ⁻¹
L*	Luminosidad
L_f	Luminosidad final
L_i	Luminosidad inicial
n	Orden de reacción
N	Newton
N ₂	Concentración de nitrógeno, %
O ₂	Concentración de oxígeno, %

R_c	Constante de los gases ideales, $8.314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$
RQ	Coeficiente de respiración
R_1	Velocidad de respiración a la T_1 , $\text{m}^3\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$
R_2	Velocidad de respiración a la T_2 , $\text{m}^3\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$
t	Tiempo, h
T	Temperatura, °C o K
TR	Velocidad de transpiración, $\text{g kg}^{-1}\text{h}^{-1}$
ΔE	Cambio de color total
δ	Factor pre-exponencial

RESUMEN

En la actualidad el consumidor busca alimentos que sean sanos y saludables que estén libres de conservadores y otras sustancias que puedan dañar su salud, y que al mismo tiempo estos productos sean poco perecederos. Uno de estos productos son los germinados ya que son una importante fuente de vitaminas y proteínas, se pueden consumir frescos o ligeramente cocidos y pueden ser el complemento desde ensaladas hasta sándwiches. Además de ser un alimento saludable, los germinados son muy perecederos, por lo cual se buscan alternativas de conservación que permitan a largar su vida útil; siendo este el objetivo principal de estudio. En el presente estudio se trabajo con germen de alfalfa, el cual fue sometido a un pretratamiento con un flujo continuo de etileno en un sistema cerrado. Se envasaron muestras en envases de media barrera, y se aplicaron tres diferentes tratamientos: germen solo con etileno, germen con etileno y atmósferas modificadas y germen en atmósferas modificadas. Cada muestra se almacenó a 2, 5 y 7 °C para determinar el efecto del pretratamiento en función de la temperatura. Se realizaron 6 muestreos durante dos semanas de almacenamiento; se determino textura, color, pérdida de peso, pH, velocidad de transpiración e índice de decaimiento para determinar cuales son las mejores condiciones que permitan aumentar la vida útil del germen de alfalfa. Se concluyó que las mejores condiciones de almacenamiento son: el almacenamiento a 2 °C y el germen envasado en atmósferas modificadas ya que en estas condiciones en el día 11 las diferencias en el germen no fueron significativas en comparación con el germen fresco ($p \geq 0.05$). El uso de etileno en combinación con atmósferas modificadas no es recomendable ya que se deteriora rápidamente a partir del día 7 y empieza a disminuir su calidad. Por otro lado el almacenamiento a 2 °C de las muestras con etileno son aceptables, pero sus características de calidad son ligeramente menores a las muestras de atmósferas modificadas, además de que empiezan a deteriorar a partir del día 9 de almacenamiento.

INTRODUCCIÓN

El procesamiento de frutas y vegetales incluye lavado, cortado, tratamientos con agentes sanitizantes, envasado y almacenamiento bajo condiciones de refrigeración. La vida útil de alimentos mínimamente procesados es limitada a pocos días debido a la respiración, transpiración y la actividad enzimática en los tejidos después de la cosecha y al mismo tiempo la proliferación de microorganismos (Del Nobile y col., 2006).

El consumo de germinados, ha aumentado en todo el mundo en las últimas décadas, ya que son una buena fuente de proteínas (27%), carbohidratos (67%), minerales (512 mg), vitaminas (niacina 2.91 mg), y con un bajo contenido de lípidos (1.46%). Debido a su alto valor nutritivo se consideran saludables dado que se consumen con frecuencia crudos o ligeramente cocidos en ensaladas, sándwiches y otros productos. Hoy en día se ofrecen gran variedad de germinados siendo lo más populares los de rábano, alfalfa y de frijol mungo (Peñas y col., 2009).

Los germinados tienen naturaleza perecedera, debido principalmente a su tasa de respiración, viéndose reflejado en la pérdida de peso (Mahajan y col., 2008). Cuando el producto pierde entre el 5-10 % de su peso fresco, el germen comienza a deteriorarse rápidamente observándose el obscurecimiento de la raíz y los cotiledones, decaimiento, olor a humedad y desarrollo de viscosidad así como el aumento de la tasa de respiración y rápidamente se convierte en inservible (Goyal y Siddiqui, 2012).

El almacenamiento de productos perecederos, como lo son los germinados, tiene como finalidad extender la vida útil preservándolos en su forma más útil para los consumidores e industrias de proceso. La baja temperatura con la alta humedad relativa y atmósferas

controladas y/o modificadas son los métodos comúnmente más usados para mantener la calidad del producto fresco (Ratti y col., 1996).

Para extender la vida útil de los germinados, la tasa de pérdida de agua debe ser tan baja como sea posible, por lo que se recomienda almacenar a una baja temperatura y una alta humedad relativa (95-100 %) para disminuir su tasa de respiración, con lo que se logra incrementar la vida útil hasta por 6 a 7 días. Uno de los métodos de conservación que se ha venido explorando en el caso de germinados, es el empleo de atmósferas modificadas activas y pasivas (Ospina y Cartagena, 2008), que en conjunto con otros métodos de conservación contribuyen a incrementar el tiempo de vida útil del producto (Varoquaux y col., 1996).

Además de la aplicación de atmósferas modificadas, se ha utilizado etileno como promotor de la calidad; el etileno es una hormona vegetal que se utiliza en forma gaseosa para promover la germinación de la semilla y el brote (germinado), iniciar o inhibir la iniciación de las raíces y mejorar el desarrollo del color. Además de los beneficios anteriores, se han encontrado estudios en los cuales la aplicación de etileno puede beneficiar el espesor y longitud de los germinados, dependiendo de las concentraciones de etileno que sean aplicadas, ya que estas pueden ser benéficas, no significativas o perjudiciales; puede acelerar la velocidad de respiración, pero esto depende de la concentración de CO₂ que este presente, si no puede ser inhibido el etileno por el CO₂, también puede propiciar a la degradación del contenido de clorofila o reducir la longitud de la radícula (Saltveit, 1999).

En la literatura se reportan estudios sobre la velocidad de respiración de productos altamente perecederos (lechugas, espárragos, coles, hongos, etc.) los cuales se basan en el principio de la cinética enzimática para explicar la influencia de la composición de gases en la aplicación de atmósferas modificadas, así como la influencia de la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius. Por lo tanto hay poca información del estudio de la velocidad de transpiración y en especial en germinados, ya que al ser considerados productos saludables, con alta tasa de respiración, se requiere de la búsqueda de alternativas que permitan lograr

establecer las condiciones adecuadas de almacenamiento, siendo una alternativa el envasado en atmósferas modificadas.

En este trabajo se estudiará el efecto del pretratamiento con etileno, la aplicación de atmósferas modificadas (activas y pasivas) y la temperatura de almacenamiento en la velocidad de transpiración del germen de alfalfa para obtener un modelo cinético que

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1 Germen de alfalfa y sus características

La germinación de leguminosas para consumo humano se ha practicado en el Occidente durante siglos pero es un fenómeno relativamente nuevo en el Oeste, donde solo en los últimos años se ha descubierto una aceptación generalizada. Mientras que en años anteriores se asociaba con establecimientos de comida oriental, hoy los germinados en Estados Unidos se encuentran en casi todos los supermercados y en las barras de ensaladas. Probablemente este aumento de popularidad de los germinados y las demandas de algunos defensores de alimentos saludables, parecen haber provocado una serie de investigaciones sobre la composición nutricional de los germinados. Recientemente, una revisión general más exhaustiva sobre los germinados incluye la composición de nutrientes (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química y nutricional de germen de alfalfa (Fordham y col., 1975).

Componente	%	Vitaminas	% mg	Minerales	% mg
Agua	81.7-95.4	A. ascórbico	1.58-30.71	Fosforo	39.8-109.8
Proteínas	2-8.9	Tiamina	0.06-0.14	Sodio	3-8.8
Lípidos	0.1-1.5	Riboflavina	0.075-0.27	Potasio	47.1-128.8
Carbohidratos	1.7-14.4	Niacina	0.33-1.60	Calcio	10.5-55.5
Fibra	1.7	Vitamina B ₆	0.011-0.18	Magnesio	12-48.6
Cenizas	0.2-0.9	Total de folacina	0.020-0.96	Zinc	0.33-3.31

La germinación es el conjunto de fenómenos por los cuales el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula.

La radícula es el primer elemento embrionario en brotar a través de la envoltura de la semilla. Forma pelos radicales que absorben agua y sujetan el embrión al suelo. A continuación empieza a alargarse el hipocótilo, que empuja la plúmula, y en muchos casos el cotiledón o los cotiledones, salen hacia la superficie del suelo (Figura 1).



Figura 1. Germinación de la semilla

Los cotiledones que salen a la luz forman clorofila y llevan a cabo la fotosíntesis hasta que se desarrollan las hojas verdaderas a partir de la plúmula. Desde que comienza la germinación hasta que la planta logra la completa independencia de los nutrientes almacenados en la semilla, la planta recibe el nombre de plántula (Gonzalez, 2008). Dependiendo del tipo de semilla, la cosecha ocurre generalmente de 3-8 días después de la germinación.

El germen de alfalfa es una especie de leguminosa, cultivada por sus semillas comestibles ricas en proteínas; el porcentaje de proteínas es más alta en las semillas que en el germen (2.7-5 g/100 g). El germen de alfalfa contiene mayores cantidades de hierro, esto es debido por el pretratamiento del material de germinación con 0.05 % de cal clorada, en cuanto al contenido de riboflavina es tres veces mayor que en el frijol mungo o la soya.

Los brotes de alfalfa son altamente perecederos y por lo tanto tienen una inherente corta vida. Los brotes permanecen en buenas condiciones a 0 °C y 95 % -100 % de humedad relativa (HR) durante 6-7 días, mientras que la exposición a 20 °C durante 30 minutos cada día puede reducir la vida de almacenamiento. Los síntomas de deterioro incluyen: oscurecimiento de la raíz y los cotiledones, el desarrollo de estrías oscuras en el hipocótilo y eventual desarrollo de viscosidad, decaimiento, y un olor a humedad (Goyal y Siddiqui, 2012).

a) Índice de madurez

La longitud del brote deseada es el índice de madurez principal y la cosecha se hace en un número relativamente fijo de días después de la aparición de la radícula. Para el caso de germen de alfalfa su longitud es de 26-38 mm.

b) Índice de calidad

Los brotes deben estar limpios, de color brillante característico del tipo de brote y libre de daños, tierra o suciedad y pudriciones.

c) Temperatura

El enfriamiento rápido de los brotes es esencial para alcanzar la mayor vida de anaquel posible. Bajo estas condiciones se puede esperar que la mayoría de los brotes mantengan una calidad aceptable de 5 a 9 días. La vida de anaquel a 2.5 °C es menor de 5 días, a 5 °C y 10 °C es menor de 2 días. Las altas tasas de respiración y la naturaleza perecedera del producto obligan un almacenamiento y una distribución rápida a 0 °C (Tabla 2).

Tabla 2. Tasa de respiración y H.R de germen (Suslow y Cantwell, 2013)

Temperatura	0 °C	5 °C	10 °C
mLCO ₂ /kg*h	9-11	19-21	42-45
H.R.	95-100 %		

d) Condiciones de Atmósfera modificada

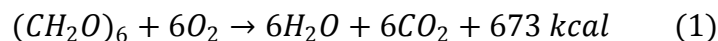
Envasar los germinados en cubiertas plásticas duras (clamshells) con ventilación limitada o en bolsas perforadas ayuda a mantener la calidad. Un estudio sobre los germinados de frijol mungo demostró que una atmósfera de 5 % O₂ + 15 % CO₂ extendió el tiempo de conservación y la calidad (Varoquaux y col., 1996).

e) Enfermedades

La pudrición bacteriana (*P. fluorescens*, *P. marginalis*, *P. viridiflava*) es un problema común en muchos tipos de germinados, y se desarrolla muy rápidamente en el sistema de producción y durante el almacenamiento de los germinados. Una calidad de semilla alta, un proceso apropiado de pre-germinación, un tratamiento de semilla adecuado y la refrigeración poscosecha son los controles principales, pero el lavado en agua clorada o con ozono ayudará a controlar estas pudriciones y pérdidas de producto (Suslow y Cantwell, 2013).

1.2 Respiración y transpiración

La respiración es un proceso metabólico que proporciona la energía para los procesos bioquímicos de plantas. Varios sustratos utilizados en importantes vías metabólicas de la planta se forman durante la respiración. La respiración aerobia consiste en la descomposición por oxidación de las reservas orgánicas en moléculas más simples, incluyendo el CO₂ y el agua, con liberación de energía.



Los sustratos orgánicos desglosados en este proceso pueden incluir hidratos de carbono, lípidos y ácidos orgánicos. El proceso consume O₂ en una serie de reacciones enzimáticas. La glucólisis, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, y el sistema de transporte de electrones son las vías metabólicas de la respiración aerobia. La proporción de CO₂ producido respecto al O₂ consumido, se conoce como el cociente respiratorio (RQ), se supone normalmente que es igual a 1.0 si los sustratos metabólicos son los hidratos de carbono. Si

el sustrato es un lípido, el RQ es siempre inferior a la unidad, porque la relación entre carbono y O₂ en lípidos es inferior a la relación en hidratos de carbono. Si el sustrato es un ácido, el RQ es mayor que la unidad. Por lo tanto, los valores de RQ normales en la literatura están reportados entre 0.7 a 1.3 (Fonseca y col., 2002).

El constituyente más abundante en frutas y vegetales frescos es el agua, que existe como una fase líquida continua dentro de la fruta o vegetal. Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado pierde agua hacia la atmósfera, este proceso es conocido como transpiración. La atmósfera interna de frutas y hortalizas está saturado con vapor de agua, pero a la misma temperatura, el aire circundante esta menos saturado.

Existe un gradiente a lo largo del cual el vapor de agua se mueve desde el producto al aire que lo rodea. El efecto neto de la transpiración es una pérdida de agua del producto cosechado, que no puede ser reemplazada.

La superficie del producto puede suponerse que está saturada, y por lo tanto la presión de vapor de agua en la superficie del producto es igual a la presión de saturación de vapor de agua evaluada en temperatura de la superficie del producto. La respiración dentro de la fruta o vegetal, por otro lado, tiende a aumentar la temperatura del producto, aumentando así la presión de vapor en la superficie y aumentando la transpiración. Además, la tasa de respiración es en sí misma una función de la temperatura del producto. Los factores tales como la estructura de la superficie, permeabilidad de la piel, y el flujo de aire también afectan la tasa de transpiración.

La pérdida continua de humedad de los productos durante la manipulación y almacenamiento es inevitable y puede ser tolerado. Sin embargo, en muchas condiciones, la pérdida de humedad puede causar que el producto se marchite. La pérdida resultante en peso fresco (5-10 %) no solo afecta la apariencia, textura y el sabor del producto, sino que también reduce la masa vendible.

Para extender la vida útil de los productos, su tasa de pérdida de agua debe ser tan baja como sea posible (Mahajan y col., 2008). La tasa de transpiración está influenciada por factores tales como la temperatura, la humedad, el área de superficie, la tasa de respiración, y el movimiento del aire. La humedad relativa del ambiente tiene un efecto considerable en

la pérdida de agua de los productos frescos durante el almacenamiento; Burton y Noble (1993) encontraron que las pérdidas de peso de los hongos almacenados en cestas abiertas fueron que por cada 5 °C (73 % HR) y 18 °C (90 % HR) eran lineales, en promedio 4 % por día a 5 °C y 6 % por día a 18 °C. Shirazi y Cameron (1992) encontraron que la tasa de pérdida de peso de tomates individuales cayó rápidamente en un 50 % cuando la humedad relativa se incrementó de 52 % a 85 % a 20 °C.

1.3 Efecto del etileno en productos frescos

El etileno (C_2H_4) se produce de forma natural, es un gas regulador del ciclo de vida de la planta incluye: germinación de semillas, iniciación de la raíz, desarrollo y duración de conservación frutas y verduras, senescencia y especialmente durante el desarrollo de la raíz (Huang y col., 2013). Esta poderosa hormona es eficaz en concentraciones de partes por millón a partes por mil millones. Tanto la síntesis y la acción de C_2H_4 implican complicados procesos metabólicos, que requieren oxígeno y son sensibles a concentraciones elevadas de dióxido de carbono. La sensibilidad endógena de C_2H_4 cambia durante el desarrollo de la planta, al igual que su velocidad de síntesis y la pérdida por difusión de la planta (Saltveit, 1999).

Además de los beneficios anteriores, se han encontrado estudios en los cuales la aplicación de etileno puede aumentar el espesor y longitud de los germinados, dependiendo de las concentraciones de etileno que sean aplicadas, ya que estas pueden ser benéficas, no significativas o perjudiciales. Como por ejemplo puede acelerar la velocidad de respiración, pero esto depende de la concentración de CO_2 que este presente, si no puede ser inhibido el etileno por el CO_2 . También puede propiciar la degradación del contenido de clorofila o reducir la longitud de la radícula (Saltveit, 1999).

Las respuestas producidas por la aplicación endógena o exógena de C_2H_4 son numerosas y variables (Tabla 3). Por ejemplo, los efectos que se consideran beneficiosos incluyen la promoción de la floración en piña y la aceleración de la maduración del tomate y melón. Los efectos que se consideran perjudiciales incluyen el aborto de flores y el desarrollo de

pardeamiento en lechuga. A menudo, la misma respuesta, por ejemplo, la aceleración de la pérdida de clorofila o la promoción de la maduración, es vista como benéfica en algunos cultivos (desverdización de cítricos, la maduración de los frutos climatéricos) y perjudicial en otros (coloración amarillenta de los vegetales verdes, ablandamiento excesivo de frutas o pardeamiento de lechuga) (Klutzy y col., 2010).

Tabla 1. Respuestas de la planta al etileno (Saltveit, 1999).

Estimulación	Inhibición
Síntesis de C ₂ H ₄ en la maduración de fruta climaterica.	Síntesis de etileno en el tejido vegetativo y frutos no climatéricos
Maduración de frutas	Desarrollo de flor en la mayoría de las plantas
Síntesis de pigmentos	Transporte de auxina
Dstrucción de clorofila	Crecimiento de la raíz
Germinación de semillas	Orientación normal de microfibrillas de la pared celular.
Formación de raíces	
Respiración	
Abscisión	
Senescencia	

1.3.1 Síntesis y acción del etileno

La biosíntesis de etileno fue estudiada por S.F. Yang, quien en 1979 describió lo que se conoce como el ciclo de la metionina o de Yang. Este ciclo se inicia justamente en la metionina que se asocia a la adenosina conformando la S-adenosilmetionina (AdoMet). El paso siguiente es la conversión de este intermediario en ACC (ácido 1-aminociclopropano-1- carboxílico) el cual se desdobla en etileno con liberación de CO₂ (Figura 2). Este ciclo metabólico es importante pues recicla la metionina, un aminoácido no abundante, como fuente de azufre. Las reacciones pueden estar separadas espacialmente; en condiciones anaeróbicas, el ACC se genera en la raíz y se transporta a través de la corriente transpiratoria hacia la parte aérea, donde se transforma en etileno y donde manifiesta su acción. Las tres reacciones principales están obviamente gobernadas por las enzimas AdoMet-sintetasa para la síntesis de AdoMet; la ACC-sintetasa para el ACC y la ACC-oxidasa para el etileno, siendo esta última una reacción aeróbica (Jordán y Casaretto, 2006).

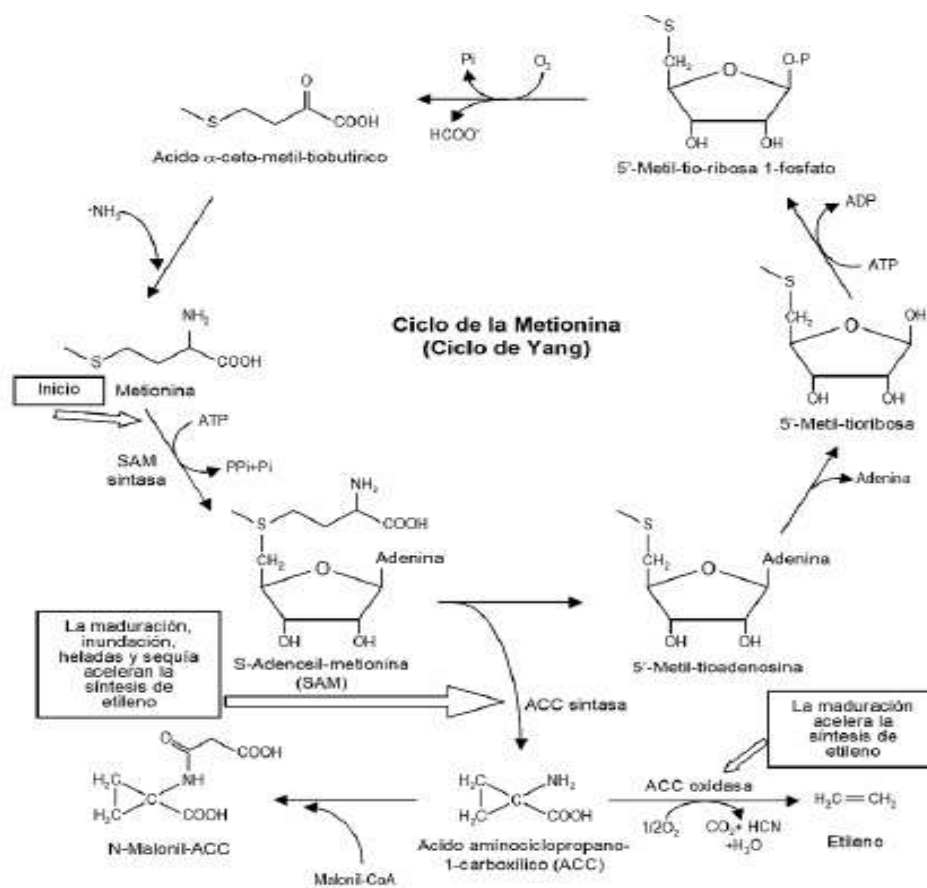


Figura 2. Biosíntesis del etileno y ciclo de Yang (Saltveit, 1999).

El etileno regula la expansión celular lateral en plántulas (germinados) con inhibición de la elongación del epicotilo y radícula, causando también incremento en la curvatura a nivel de la porción cotiledonar. La expansión celular lateral se considera que es un efecto del etileno sobre alineamiento a nivel de microtúbulos lo cual afecta la deposición de nuevas microfibrillas de celulosa durante el crecimiento (Figura 3). La inhibición del crecimiento de la raíz es debido a la depresión de la elongación celular apical, que está íntimamente asociada con la elasticidad de la pared celular. El crecimiento de elongación de la raíz primaria y la formación de raíces laterales son dos factores clave que afectan la eficiencia de adquisición de suficiente agua y nutrientes. Los datos bioquímicos y genéticos han demostrado que el etileno interactúa con la auxina en la regulación del crecimiento de las raíces. Por ejemplo, ha sido demostrado que la interacción entre el etileno y la auxina

regulan el crecimiento de la raíz, causando inhibición del crecimiento celular en la zona de elongación de la raíz a través de estimular la biosíntesis y el transporte de auxina por el etileno. Además, de la interacción etileno-auxina se ha demostrado que regulan el ángulo de crecimiento de la raíz basal y la longitud de la raíz de la soya (Huang y col., 2013). Un incremento en la concentración de etileno produce sobre la plántula un acortamiento, un engrosamiento y una tendencia de crecimiento horizontal del tallo de la misma a medida que la concentración de la hormona aumenta (Slade y col., 2010).

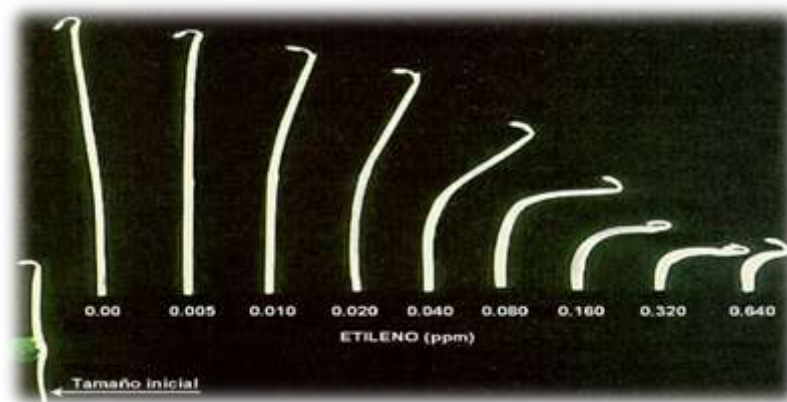


Figura 3. Plántula de guisante (Rost y col., 1998).

Los efectos más conocidos del etileno son a nivel de la maduración de frutos. Con el avance de la madurez ocurre la transformación del almidón en azúcares, ablandamiento y degradación de paredes celulares junto con el desarrollo de aromas, sabores y colores. En breve también se denota un aumento global de la respiración con alta producción de CO_2 . Aunque este efecto es inicialmente lento, la producción de etileno se “retroalimenta”, es decir, los niveles endógenos auto-generan un mayor incremento de su síntesis rápidamente y en forma exponencial.

1.3.2 Métodos de aplicación del etileno

- a) Inyección: Se inyecta etileno en atmósfera de la cámara de maduración. El etileno se libera a partir de un contenedor perfectamente hermético. Tiene la ventaja de fácil aplicación. Pero como desventaja se requieren frecuentes ventilaciones para eliminar el CO₂ resultante, consecuencia de la elevada respiración.
- b) Goteo: Es un sistema operativo lento y continuo. El etileno se distribuye mediante cilindros compresores equipados por reguladores y controladores de flujo. También aquí es necesaria la ventilación periódica.
- c) Chorro: consiste en introducir etileno por una corriente continua de aire que barre el producto. Dicha corriente arrastra al CO₂ evitando aireaciones periódicas.

1.4 Atmósferas modificadas

El envasado en atmósfera modificada implica la eliminación del aire del interior del envase y su sustitución por un gas o mezcla de gases, generalmente CO₂, O₂ y N₂ en materiales con barrera a la difusión de los gases. Esta modificación en el ambiente gaseoso disminuye el grado de respiración, reduce el crecimiento microbiano y retrasa el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto (ODECOPACK, 2006).

Dependiendo de las exigencias del alimento a envasar, se requiere una atmósfera con ambientes ricos en CO₂ y pobres en O₂ los cuales reducen el proceso de respiración en los productos, conservando sus características fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas por un mayor tiempo, y en función de ésta, se elegirá el envase o película de protección que también tendrá que ofrecer una transparencia que permita visualizar los productos y que brinde resistencia mecánica.

Si se envasan en atmósferas modificadas alimentos con una actividad metabólica importante, como frutas y hortalizas frescas, es imprescindible emplear materiales de permeabilidad selectiva. En caso contrario, su vida útil se reduce considerablemente. La estructura de las películas poliméricas permite el intercambio de gases entre el espacio libre

de cabeza del envase y la atmósfera exterior. Gracias a ello, se alcanza un estado de equilibrio entre los gases consumidos y producidos por el alimento y los que se intercambian a través de la película de envasado. De esta manera, se logra mantener una composición gaseosa dentro del paquete muy similar a la de partida.

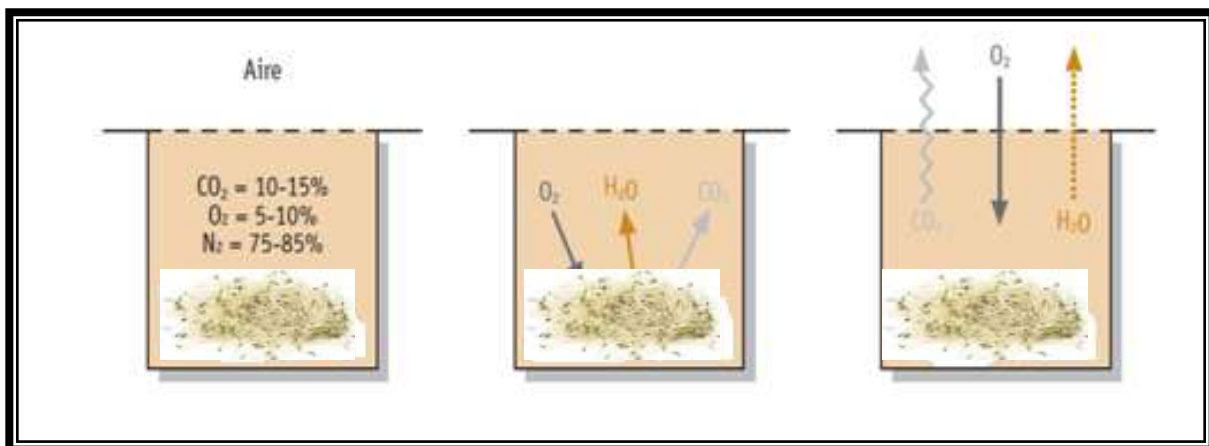


Figura 4. Variaciones del ambiente gaseoso en envases con productos metabólicamente activos bajo una atmósfera modificada (ODECOPACK, 2006).

1.4.1 Tipos de atmósferas modificadas

a) Atmósfera modificada pasiva

La modificación de la atmósfera alrededor del producto se lleva pasivamente por efecto de la respiración y permeabilidad de la película. Cuando el producto fresco es envasado, se producen dos procesos simultáneos: la respiración del producto y la permeación de los gases a través del envase.

Cuando la velocidad de consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono es acompañada con un buen intercambio gaseoso de la película, es posible tener una atmósfera modificada adecuada para el producto. 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. Cuando se alcanza el equilibrio pueden lograrse concentraciones alrededor del producto entre 2-5 % de O₂ y 3-8 % de CO₂.

Se ha observado que estas concentraciones son eficaces para extender la vida útil de una amplia gama de frutas y hortalizas retrasando los procesos de maduración y de senescencia, tales como degradación de la clorofila, ablandamiento, oscurecimiento enzimático y disminución de los síntomas de daño por frío. Si se elige una película de permeabilidad intermedia, se establecerá un equilibrio cuando las intensidades de transmisión O₂ y CO₂ a través del envase sean iguales a la intensidad de respiración del producto (Ospina y Cartagena, 2008).

b) Atmósfera modificada activa

La atmósfera se estabiliza eliminando el aire del envase y reemplazándolo con la mezcla de gases deseada. La ventaja reside en la posibilidad de modificarla inmediatamente después del envasado, consiguiendo el establecimiento de las condiciones de equilibrio con un corto periodo inicial de reajuste atmosférico. Por trabajos se puede mejorar ventajosamente los parámetros del ambiente que rodea al vegetal, modificando la composición de la atmósfera al principio o en el curso de la conservación. Recientemente se han realizado ensayos con absorbedores de O₂, CO₂ y C₂H₄ con el fin de tener un mejor control de las concentraciones de gases (ODECOPACK, 2006).

1.4.2 Atmósfera en equilibrio

Después de un periodo inicial de adaptación a las nuevas condiciones atmosféricas se establece un equilibrio dinámico entre los gases producidos endógenamente en los distintos centros de acción enzimática de la célula y los gases del medio ambiente que rodea al vegetal. En este equilibrio, el porcentaje de consumo de O₂ y el desprendimiento de CO₂ equivalen al porcentaje de salida de estos gases a través del envase a una temperatura determinada.

Estos intercambios vegetal-microambiente y microambiente-atmósfera externa, se producen simultáneamente y por lo tanto para obtener una atmósfera estable en el envase es necesario que se verifiquen los equilibrios siguientes:

*Intensidad de absorción de oxígeno por el material vegetal equivalente al flujo total de entrada de oxígeno en el envase.

*Intensidad de emisión de CO₂ por el material vegetal equivalente al flujo total de salida de CO₂ a través del envase.

La intensidad respiratoria del producto, las características de permeabilidad del envase, la temperatura y humedad relativa determinan las condiciones de equilibrio de O₂ y CO₂ dentro del envase. Estos factores intervienen en el control de la atmósfera de equilibrio en diferentes niveles (Artés, 2006). El vegetal en función de su naturaleza, intensidad respiratoria y masa; el envase determinará la velocidad de paso de los gases de acuerdo con su permeabilidad y superficie de intercambio y la temperatura afectara a los valores de la intensidad respiratoria y humedad relativa (Romojaro, 1996).

1.4.3 Importancia del envasado en atmósferas modificadas

Las características del envasado de las frutas y hortalizas son determinantes para evitar riesgos y perjuicios por oxidaciones, pérdidas de color, desecación, proliferación de masas microbianas y otras contaminaciones en el envasado de frutas y hortalizas, así como para protegerlo contra gases y olores.

La elección de la película o envase a utilizar va relacionada con el tiempo en que se desee que la fruta u hortaliza permanezca envasada y con la temperatura del sitio de conservación. Los principales atributos que se deben conocer cuando se seleccionan los materiales para el envasado en atmósferas modificadas de frutas y hortalizas son: permeabilidad a los gases, velocidad de transmisión del vapor de agua, propiedades mecánicas, tipo de envase, transparencia y fiabilidad al sellado (Ospina y Cartagena, 2008).

Las frutas y hortalizas frescas continúan respirando después de ser recolectadas y en consecuencia, cualquier envasado posterior debe tener en cuenta esta actividad respiratoria. La reducción de O_2 y el enriquecimiento en CO_2 son consecuencias naturales del desarrollo de la respiración cuando las frutas y hortalizas frescas se almacenan en un envase herméticamente cerrado. Estas modificaciones en la composición de la atmósfera, provocan un descenso en la intensidad respiratoria del material vegetal (Sandhya, 2010).

Si el producto está encerrado en un envase impermeable, los niveles de O_2 en el interior del envase, podrían descender a concentraciones muy bajas en las que se podría iniciar la respiración anoxigénica. Si las frutas u hortalizas se encierran en un envase con excesiva permeabilidad, se producirá poca o ninguna modificación de la atmósfera en el interior del envase.

Al seleccionar una película de permeabilidad intermedia, se establece una adecuada atmósfera de equilibrio cuando las intensidades de transmisión de O_2 y CO_2 a través del envase son iguales a la intensidad de respiración del producto. La atmósfera de equilibrio exactamente alcanzada dependerá necesariamente de la actividad respiratoria intrínseca del producto pero podría estar fuertemente influenciado por diferentes factores extrínsecos. Es necesario optimizar estos factores para cada producto de modo que se puedan alcanzar completamente los beneficios del envasado en atmósfera modificada. En la Tabla 4 se proporciona la velocidad de transmisión del O_2 y del vapor de agua de una amplia variedad de películas utilizadas para el envasado en atmósferas modificadas de productos frescos. Utilizando estos tipos de películas, se pueden obtener las atmósferas modificadas de equilibrio deseadas.

Tabla 4. Intensidad de la transmisión de O₂ y vapor de agua de materiales de envasado seleccionados para frutas y hortalizas (Ospina y Cartagena, 2008).

Película de empaque (25μ)	Intensidad de transmisión de O₂ (cm²/día * atm) 23 °C 0 %HR	Permeabilidad relativa a 23 °C 0 %HR	Intensidad de transmisión de vapor de agua (g/m² * día) 38 °C/90 % HR	Intensidad relativa de transmisión de vapor de agua a 38 °C/90 % HR
Polietileno de baja densidad (LDPE)	5 000 – 10 000	Alta	16 – 24	Semibarrera
Polipropileno (P)	3 000 – 3 700	Baja	10 – 12	Semibarrera
Polipropileno orientado (OPP)	2 000 – 2 500	Baja	7	Baja barrera
Cloruro de polivinilo (PVC)	2 000 – 50 000	Baja	2 001	Muy alta
Poliéster (PET)	50 - 100	Baja	20 - 30	Semibarrera

La permeabilidad a los gases de un material de envasado depende de diversos factores como la naturaleza del gas, la estructura y espesor del material, temperatura y humedad relativa. El CO₂, O₂ y N₂ penetran a velocidades completamente diferentes. Sin embargo el orden CO₂>O₂>N₂ se mantiene siempre y las relaciones de permeabilidad CO₂/O₂ y O₂/N₂ se sitúan siempre en el rango 3-5 (Ospina y Cartagena, 2008).

La permeabilidad es inversamente proporcional al espesor de la película. El incremento de la temperatura aumenta generalmente la permeabilidad del gas, presión de vapor, activación de los fenómenos de absorción y desorción, solubilidad del oxígeno y nitrógeno en el polímero y la separación de sus cadenas.

La permeabilidad de una película al oxígeno, dióxido de carbono o nitrógeno, no se modifica generalmente por la presencia de otro gas, mientras que en los plásticos hidrofílicos está fuertemente influenciada por el vapor de agua. La permeabilidad al agua

aumenta cuanto más débil es el grado de cristalización del polímero y en el caso de vapores orgánicos depende de la naturaleza polar o apolar del compuesto (Romojaro, 1996).

1.4.4 Películas utilizadas

Existen muchos materiales plásticos disponibles para utilizarlos en el envasado, pero relativamente pocos han sido empleados para envasar productos frescos que tengan una permeabilidad a los gases que cumpla los requisitos para su empleo en el envasado en atmósferas modificadas.

Debido a que la concentración de O₂ en el envasado disminuye, desde un 25 % al 21 %, existe el peligro de que la concentración de CO₂ aumente desde el 0.03 al 16 – 19 % en el interior del envase. Este hecho se produce porque existe una relación 1:1 entre el O₂ consumido y el CO₂ producido. Como estas concentraciones de CO₂ podrían ser perjudiciales para la mayoría de las frutas y hortalizas, una película ideal debería permitir que saliera mayor cantidad de CO₂ que la de O₂ que entra.

La permeabilidad del CO₂ debería ser 3–5 veces superior a la permeabilidad del O₂, dependiendo de la atmósfera que se desea obtener. Varios polímeros utilizados en la formulación de materiales plásticos satisfacen este criterio. Los polímeros plásticos destinados al envasado en atmósferas modificadas de productos vegetales frescos deberán reunir las siguientes características (Artés, 2006):

- Permeabilidad requerida y, en su caso, selectiva para los distintos gases
- Baja permeabilidad al vapor de agua
- Transparencia, claridad y brillo
- Peso reducido
- No tóxico
- Espesor idóneo
- Resistencia a la rotura y al estiramiento
- Facilidad para sellarse por calor a temperatura relativamente baja (30-40 °C)

- Inocuo y que no reaccione con el producto vegetal
- Buena resistencia térmica
- Fácil manejo en el envasado y etiquetado mecanizado a elevada velocidad
- Fácil de imprimir
- Precio accesible

El polietileno de baja densidad (LDPE) y el cloruro de vinilo (PVC) son los principales plásticos utilizados en el envasado de frutas y hortalizas, también se ha utilizado el poliestireno; en cambio el sarán y el poliéster presentan una baja permeabilidad a los gases que únicamente deberían emplearse para aquellos productos que tengan una intensidad respiratoria muy baja (Ospina y Cartagena, 2008).

a) *Polietileno de baja densidad (LDPE)*. Es el polímero más empleado. Se clasifica industrialmente por su densidad e impermeabilidad creciente al vapor de agua en alta, media, baja y ultra baja. Entre sus características técnicas destacan la buena resistencia a la degradación química y al rasgado, aunque no a la rotura, y su elevada permeabilidad a los gases.

Sin embargo, presenta inconvenientes como que solo puede sellarse con otro polietileno por la técnica de impulso, con baja presión y calor, y queda el riesgo de que se formen poros en el sellado si queda atrapado en la zona a sellar algún trozo del producto que se envasa. El PE de baja densidad, presenta una elevada selectividad, importante para bajar el nivel de O₂ sin que aumente en exceso del CO₂ en el envase. Se pueden utilizar en películas autoadhesibles para brócoli y coliflor (Artés, 2006).

Relacionado con el LDPE está el etileno-acetato de vinilo (EVA), un copolímero de etileno y acetato de vinilo (normalmente con más del 4% de acetato de vinilo). El copolímero tiene mejores cualidades de sellado, es decir, un umbral de temperatura de sellado menor permite hacer el sellado a través de un cierto nivel de contaminación, como trazas de agua, condensación o grasa de los productos que se está envasando.

- b) *Polipropileno*. Es químicamente similar al polietileno y puede ser extruído o coextruído con un elemento monómero para proporcionar características de sellado por calor. El polipropileno de tipo orientado, aunque tiene mayores intervalos de barrera frente al vapor de agua que el polietileno, también proporciona una mayor barrera a los gases (7-10 veces), teniendo además una excelente resistencia a las grasas.

- c) *Policloruro vinilo (PVC)*. En su forma no plastificada, es más ampliamente utilizada para envasado en atmósfera modificada. El PVC posee una buena capacidad de barrera frente a los gases, moderada al vapor de agua y posee una excelente resistencia a grasas y aceites.

1.4.5 Gases utilizados en atmósferas modificadas

El concepto de envasado de alimentos frescos en atmósferas modificadas es la sustitución del aire que rodea al alimento con una mezcla de gases en proporción diferente a la del aire. Hay que tener en cuenta que el aire y O₂ ejercen efectos destructores sobre las vitaminas (particularmente la vitamina A y C), los colores, sabores y otros componentes de los alimentos.

Algunos microorganismos necesitan O₂ para su desarrollo por lo tanto una forma de conservar los alimentos preservándolos del desarrollo de este tipo de microorganismos será ponerlos fuera del contacto del aire, por ejemplo envasándolos en atmósferas pobres de O₂ lo cual se consigue por medios físicos y da lugar a otros métodos industriales de conservación: vacío, gases inertes y atmósferas controladas o atmósferas modificadas. Las principales características de cada uno de los gases más importantes son (Ospina y Cartagena, 2008):

a) Dióxido de Carbono

El efecto del CO₂ es fundamentalmente el desplazamiento de O₂ (gas vital para muchos microorganismos) y el cambio de las condiciones de pH en la superficie del alimento (Ospina y Cartagena, 2008). El CO₂ ejerce un efecto inhibitor sobre el crecimiento bacterial y fúngico, aunque su acción depende de factores como concentración en la atmósfera y la temperatura de almacenamiento ya que a temperaturas bajas aumentan la solubilidad del gas tanto intra como intercelularmente (M. Yahos, 2009).

Se ha observado que altas concentraciones de este gas reducen la tasa respiratoria de frutas y hortalizas y niveles superiores de 1 %, pueden inhibir la acción del etileno. El modo de acción de este gas es que compite por los sitios activos con el etileno y evita su acción fisiológica en el fruto u hortaliza. Sin embargo, se ha observado que algunos productos son muy sensibles al CO₂, provocando daño en el tejido vegetal que se manifiesta físicamente en el producto disminuyendo su calidad poscosecha (Ospina y Cartagena, 2008).

b) Oxígeno

El oxígeno es un gas incoloro, inoloro que es altamente reactivo. Tiene una baja solubilidad en el agua. El oxígeno promueve muchos tipos de reacciones de deterioro en alimentos incluyendo la oxidación de lípidos, reacciones de obscurecimiento y oxidación de pigmentos (Sandhya, 2010). Las concentraciones de O₂ inferiores a la normal existentes en el aire ambiente (21 %) provocan una reducción de la intensidad respiratoria (IR), un retraso en la maduración y un aumento de la vida comercial de los productos vegetales, siendo la respuesta más o menos pronunciada según el producto y variedad de que se trate. Concentraciones superiores a la normal del aire, pueden o no, elevar la intensidad respiratoria y acelerar la maduración. Concentraciones de O₂ inferiores al 2.5 % aumentan la producción de anhídrido carbónico y generan sabores y olores anormales como consecuencia del establecimiento del proceso fermentativo por falta de O₂.

Por otra parte, se debe de evitar el agotamiento del O₂ mediante la aireación en los envases así como en el manejo adecuado de los productos en almacenamiento, esto es

posible conociendo el estudio fisiológico para cada producto en particular. A bajas temperaturas, el efecto de un nivel bajo de O₂, es menos marcado que a temperaturas altas (Ospina y Cartagena, 2008).

c) Nitrógeno.

El N₂ es el componente más abundante en el aire (79 %) y puede ser usado en cualquier forma líquido o gaseoso (M. Yahos, 2009). Es totalmente inerte y muy poco soluble en agua y grasas lo que le convierte en un producto ideal para la conservación de alimentos y bebidas. Por sus características fisicoquímicas el N₂ es utilizado en el envasado de atmósferas modificadas para reemplazar el O₂ del interior del envase y evitar problemas oxidativos en productos de alto contenido de grasa; otra de sus funciones es actuar como gas de relleno evitando el “colapso de envase” cuando se utilizan altas concentraciones de CO₂ (Parry, 1993). Es efectivo contra los microorganismos pero es inoperante contra las bacterias anoxigénicas. Para garantizar que dichas bacterias no se desarrollen en el empaque se utiliza una pequeña cantidad de O₂ (Ospina y Cartagena, 2008).

d) Mezcla de gases

La combinación de los gases dependerá fundamentalmente de:

- El tipo de producto (contenido de humedad, grasas, características microbiológicas, intensidad de respiración, la estabilización del color), que debería ser ensayado antes de empezar a envasar un producto nuevo con gases.
- El espacio libre de cabeza, ya que este actúa como reservorio de CO₂ para conservar el gas que se pierde a través del envase o que se absorbe del alimento. Este espacio libre de cabeza debe ser adecuado para incorporar gas en cantidad suficiente para que reaccione con el producto. En términos generales puede afirmarse que, cuanto mayor sea la vida útil que se desea lograr para el producto tanto mayor será el espacio libre de cabeza que se proporcione.

- **Material de envase.** Lo que se debe de tener en cuenta para seleccionar el material para el envasado en atmósferas modificadas es: la permeabilidad de los gases, la velocidad de transmisión del vapor de agua, las propiedades mecánicas, transparencia y fiabilidad al sellado.

Teniendo en cuenta las condiciones anteriores, para cada uno de los gases puede afirmarse que en un producto envasado y refrigerado, las concentraciones relativas de los gases no son estáticas, sino que cambian. Generalmente baja la concentración de O₂ y sube la concentración de CO₂.

1.4.6 Factores que influyen en atmósferas modificadas

- a) **Intensidad respiratoria:** La respiración del producto envasado interviene en los niveles de O₂ y CO₂ de la atmósfera y en el período de tiempo transcurrido hasta la estabilización. Cuanto mayor sea el desprendimiento y consumo de CO₂ y O₂ respectivamente, más tarde se lograra el equilibrio.
- b) **Temperatura:** La intensidad respiratoria aumenta en función directa con la temperatura, siendo los incrementos más acusados cuanto mayor es la temperatura de conservación del producto. Este aumento de actividad modifica la composición gaseosa en el interior del envase para una misma permeabilidad, ya que la difusión de los gases a través de la película no permite compensar la disminución de O₂ e incremento de CO₂.
- c) **Permeabilidad del envase:** La masa del gas, concretamente su masa molecular, influye sobre el coeficiente de permeabilidad, disminuyendo este a medida que aumenta la masa molecular. Por otra parte, un alto grado de cristalización y una fuerte energía de cohesión del material plástico disminuirá la permeabilidad.

- d) **Humedad relativa:** Los envases utilizados en atmósferas modificadas son de baja permeabilidad al vapor de agua y a la acumulación de agua dentro del envase, produciendo un incremento en la humedad relativa. La alta humedad relativa disminuye la pérdida de peso y mantiene la firmeza del producto por largos periodos de tiempo (Romojaro, 1996).

Las pérdidas de agua por evaporación son determinadas por el área externa de los productos por unidad de peso y por la permeabilidad al agua de la epidermis. Por esta razón, algunas especies se deshidratan rápidamente y muestran serios daños durante el almacenamiento. Se sugieren tres posibles soluciones para prevenir las excesivas pérdidas de agua (Mathlouti, 1994):

- (1) Disminución de la presión de vapor de agua en la atmósfera
- (2) Reducir el volumen de la atmósfera circundante del producto en el envase
- (3) Encerar la superficie del producto

1.4.7 Efecto de la atmósfera modificada sobre la intensidad respiratoria

Uno de los principales efectos de la atmósfera modificada sobre el metabolismo de frutas y hortalizas es el descenso de la tasa respiratoria, con una disminución en el consumo de sustratos, producción de CO₂, consumo de O₂ y desprendimiento de calor. Como resultado se frena el metabolismo y se tiene una vida de conservación potencialmente más larga.

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 en 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 esta no sea inferior al 3 %, pues de lo contrario se iniciara el metabolismo anaerobio, con descarboxilación de ácido pirúvico a acetaldehído y CO₂ y finalmente formación de

etanol. Este nivel crítico de oxígeno depende esencialmente de la especie, variedad, temperatura y tiempo de conservación.

Aunque la respiración anaerobia comienza cuando la concentración de O₂ desciende por debajo del 0.2 % en el interior de la célula, el gradiente de concentración de O₂ de la misma hasta el exterior requiere de mantenimiento de niveles del orden del 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 (Romojaro, 1996).

1.4.8 Ventajas y desventajas

Los ventajas y desventajas derivados del envasado en atmósferas modificadas dependen del producto, variedad, tipo de cultivo, estado fisiológico inicial, composición de la atmósfera, temperatura, humedad relativa y duración del almacenamiento, lo que explica los diferentes resultados obtenidos para un mismo producto (Artés, 2006 y Rodríguez y col. 2009).

❖ Ventajas

- Resultados en los productos más convenientes con mayor calidad y mayor vida útil.
- Técnica ambientalmente sostenible, flexible, barata y aplicable desde fracciones de kg hasta palets enteros.
- Frena la respiración, la biosíntesis del etileno, la maduración y senescencia, marchitamiento, la sensibilidad al etileno, los ataques fúngicos y daños por frío.
- Reduce la pérdida de acidez y de azúcares, la degradación de clorofilas, de antocianos y carotenos.
- Poca o ninguna necesidad de conservadores químicos, dando lugar a más “productos saludables” y “naturales”.
- Reducir los costos de distribución como un menor número de entregas a través de largas distancias.

- Evita la recontaminación microbiana tras el proceso, preservando la calidad y seguridad, además aporta un valor agregado.
- Permite el transporte a destinos remotos.
- Los beneficios llegan a ser más notables si la atmósfera de equilibrio se alcanza rápidamente.

❖ **Desventajas**

- Formulaciones de gas diferente para cada tipo de producto.
- Requiere equipos más especializados y costosos.
- Requiere la capacitación del personal de producción.
- Control de la temperatura necesaria.
- Seguridad de los productos que se establezcan.
- Mayor volumen de paquete que afecta negativamente a los costes de transporte y locales comerciales.
- La pérdida de todos los beneficios una vez que el paquete se abre por los consumidores o es dañado.
- Inicia alteraciones fisiológicas y/o fúngicas o induce una maduración anormal o sabor y aroma extraños.
- No frena la maduración avanzada si el producto lo alcanza de forma natural.
- Estimula la germinación y retraso del desarrollo del peridermo en algunos tubérculos y raíces.
- Las atmósferas modificadas pueden plantear limitaciones al almacenamiento, lo que aumenta los costos de logística.

1.5 Factores que afectan a la velocidad de respiración

Los factores internos que afectan la respiración son el tipo y estado de madurez del producto. Las hortalizas incluyen una gran diversidad de órganos de la planta (raíces, tubérculos, semillas, bulbos, frutos, brotes, tallos y hojas) que tienen diferentes actividades metabólicas y en consecuencia diferentes tipos de respiración. Incluso las diferentes variedades de un mismo producto puede mostrar diferentes tipos de respiración.

En el diseño de envasado en atmósferas modificadas, el período de tiempo de almacenamiento después de la cosecha puede influir en la curva de la respiración debido a:

- a) Deterioro normal del producto con el envejecimiento.
- b) La maduración de los productos.
- c) El metabolismo de la herida en los productos frescos cortados.

En la etapa de desarrollo de la senescencia, en el órgano climatérico de la planta hay un aumento de la respiración, con el fin de obtener más energía para los procesos metabólicos. Las heridas en los tejidos vegetales causan aumentos en la tasa de respiración ya que se induce la producción de etileno y por lo tanto se acelera el deterioro y la senescencia en los tejidos vegetales promoviendo la maduración. Las heridas son causadas por daños mecánicos o cortes al producto (Fonseca y col., 2002).

La temperatura es un factor externo muy importante que influye en la velocidad de respiración, provocando que las reacciones biológicas aumentan de dos a tres veces por cada aumento de 10 °C durante la distribución y comercialización; si las temperaturas son muy altas, se puede producir desnaturalización enzimática y reducir las tasas de respiración, por el contrario si las temperaturas son muy bajas, se puede producir un lesión fisiológica, lo que puede conducir a un aumento en la frecuencia respiratoria (Fonseca y col., 2002).

Otros factores son las concentraciones de O₂ y CO₂; a concentraciones bajas de oxígeno la respiración podría ser frenada por la reducción de la actividad metabólica. La influencia del CO₂ no es tan clara en el proceso, ya que depende de la sensibilidad del producto, la concentración y el tiempo de exposición. Hay hipótesis donde se considera que el CO₂ tiene un gran efecto sobre la actividad mitocondrial, incluyendo la oxidación del citrato y

succinato; donde niveles elevados de CO₂ podrían afectar a los intermediarios del ciclo de Krebs y enzimas. También el CO₂ puede inhibir la producción de etileno (Fonseca y col., 2002).

1.5.1 Influencia de la temperatura

El efecto de la baja temperatura en la reducción de las tasas de reacción bioquímica es positivo, con excepción son los productos sensibles a estas temperaturas. La influencia de la temperatura sobre la tasa de respiración se cuantificó primero con el valor Q_{10} , que es el aumento de la tasa de respiración para un aumento de 10 °C en la temperatura: (Fonseca y col., 2002)

$$Q_{10} = \left(\frac{R_2}{R_1}\right)^{\frac{10}{T_2-T_1}} \quad (2)$$

Para diversos productos, los valores de Q_{10} pueden variar de 1 a 4, dependiendo de la temperatura de almacenamiento. Se reportan valores de Q_{10} que van de 1.8 a 3.0 para los diferentes productos en aire y 3 % de O₂. La ecuación de Arrhenius también se utiliza para cuantificar el efecto de la temperatura sobre la tasa de respiración. El uso simultáneo de esta ecuación sirve para describir la influencia de la temperatura sobre la permeabilidad de la película. El parámetro de la energía de activación (E_a) en los procesos no activados pierde su significado físico y sólo caracteriza la dependencia de la temperatura:

$$R = \delta_{ref} * \exp \left[-\frac{E_a}{R_c} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right] \quad (3)$$

El rango de los valores de energía de activación son 29-9.9 kJ /mol para las frutas y hortalizas comunes en aire (Fonseca y col., 2002).

1.5.2 Efecto de atmósferas modificadas sobre la biosíntesis y acción del etileno

La conversión de ACC (Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) en etileno y su metabolización cuando se une a los receptores sólo puede producirse en presencia de CO₂. Por ello, niveles bajos de este gas pueden inhibir la acción de la ACC-oxidasa, aumentando los niveles de ACC y atenuando el fenómeno de la producción autocatalítica de etileno y limitar el incremento de la actividad ACC-sintetasa, al ser inducida su síntesis por la hormona de maduración.

La acción del CO₂ sobre la síntesis y los efectos del etileno son complejos y en la actualidad todavía no se ha podido establecer la interacción entre ambos gases. El CO₂ es considerado como un inhibidor competitivo de la acción del etileno. En tejidos vegetativos, el CO₂ acelera la metabolización del etileno en óxido de etileno y la inhibición competitiva se situara a nivel de un sistema que condujera la oxidación completa de etileno en CO₂. Las posibles interacciones del CO₂ en la ruta metabólica del etileno pueden ser múltiples y se ha comprobado que niveles bajos regulan su síntesis y niveles altos inhiben su acción, pero todavía no se conocen los mecanismos responsables de estos efectos (Romojaro, 1996).

1.6 Importancia de la vida útil

La vida útil de los alimentos es el período durante el cual el alimento conserva una seguridad y calidad aceptable, que depende de cuatro factores principales: la formulación, elaboración, envasado y las condiciones de almacenamiento.

Los alimentos son muy perecederos y hay muchos factores que pueden deteriorar la calidad y seguridad de los productos alimenticios durante el almacenamiento y la distribución. Éstos se pueden clasificar en factores físicos y químicos. Para minimizar la degradación de los alimentos durante el procesamiento o almacenamiento, se pueden utilizar modelos cinéticos que describen las tasas de degradación y la dependencia de

factores intrínsecos (pH, acidez, potencial redox, nutrientes, etc.) sobre los factores extrínsecos, como la temperatura y la humedad.

El principal propósito de los modelos cinéticos es describir un conjunto de datos obtenidos experimentalmente. Estos modelos cinéticos se pueden utilizar para la predicción, el control de procesos, la optimización y simulación de diversas operaciones de procesamiento de alimentos. Se permiten escenarios hipotéticos y conocimientos sobre los sistemas alimentarios para poder explorar y simplificar el proceso de diseño para maximizar la vida útil.

Los modelos de vida útil son ecuaciones matemáticas las cuales describen las relaciones entre el alimento, el envase y el medio ambiente. Estos modelos se basan en diferentes factores de degradación y son esenciales en la predicción de la vida útil de los alimentos, en el diseño de envase, y proporcionan información útil sobre los alimentos en circunstancias anormales a lo largo de la cadena de suministro. La mayoría de los esfuerzos en materia de modelización matemática se han centrado en la seguridad y el deterioro microbiológico (Kilcast y Subramaniam, 2011).

1.6.1 Desarrollo de modelos matemáticos

Los modelos empíricos son útiles en la simulación de sistemas de alimentos debido a su complejidad de las reacciones y la estructura no homogénea. También desde una perspectiva pragmática, para fines prácticos, simples expresiones matemáticas puede ser fácilmente utilizado para controlar el proceso. El uso de modelos matemáticos puede ayudar a (Kilcast y Subramaniam, 2011):

- ❖ Simplificar los sistemas de diseño, productos de reformulaciones y modificaciones de proceso
- ❖ Reducir el número de ensayos experimentales necesarios
- ❖ Explorar escenarios hipotéticos y conocimientos sobre los sistemas y las posibles opciones de embalaje

- ❖ Desarrollar un prototipo de envase y explorar varias opciones de tipos de película, el tamaño del paquete y la cantidad del producto, creando combinaciones que darán lugar a atmósferas benéficas

1.6.2 Cinética de reacción básica

La pérdida de la calidad para la mayoría de los alimentos se puede representar por una ecuación matemática:

$$\frac{dC}{dt} = kC^n \quad (4)$$

Se usa signo negativo si el deterioro es una pérdida de C y un signo positivo si la producción final es un producto deseable. En las reacciones de orden cero la velocidad es independiente del factor de calidad. Para una reacción de degradación:

$$-\frac{dC}{dt} = k \quad (5)$$

Integrando la ecuación 5 resulta:

$$C = C_0 - kt \quad (6)$$

En algunas deterioraciones es aplicable directamente la cinética de orden cero, la cual incluye: degradación enzimática (frutas y vegetales frescos, algunos alimentos congelados y refrigerados), oscurecimiento no enzimático (cereales secos, productos lácteos en polvo, pérdidas de proteína) y oxidación de lípidos (desarrollo de rancidez).

La expresión matemática para la reacción de degradación de primer orden puede ser descrita por:

$$-\frac{dC}{dt} = kC \quad (7)$$

Integrando la ecuación 7 se convierte en:

$$C = C_i * e^{-kt} \quad (8)$$

Los tipos de deterioración que muestran $n=1$ incluye rancidez (aceite para ensalada, vegetales secos, etc.) crecimiento y muerte microbiana, malos sabores y viscosidad por cuenta microbiana (carne, pescado y aves de corral), pérdida de vitaminas y pérdida de calidad de proteínas (Kilcast y Subramaniam, 2011).

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Problema

Los germinados son de naturaleza altamente perecedera y son muy susceptibles al deterioro si no se almacenan adecuadamente. Una vez que las semillas han germinado el producto se envasa y transporta en camiones sin refrigeración para las ventas locales por menor sin mantener la cadena de frío, disminuyendo así su vida útil. Son muy susceptibles a ser atacados por microorganismos (bacterias, mohos y levaduras) durante la manipulación y transporte. Los germinados no se pueden almacenar durante mucho tiempo en condiciones ambientales. Por esta razón, la refrigeración y aplicación de atmósferas modificadas es muy conveniente para productores y consumidores de germinados. Los tratamientos químicos, la temperatura, el control de humedad y el envasado en atmósferas modificadas pueden mantener la calidad del producto y prolongar la vida útil.

2.2 Objetivos

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del pretratamiento con etileno sobre la velocidad de transpiración de germen de alfalfa mediante el análisis de cambios cinéticos, físicos y texturales que permitan el establecimiento de las mejores condiciones de conservación para extender la vida útil del producto.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Determinar la velocidad de transpiración en germen de alfalfa mediante los cambios en concentración de vapor de agua en el espacio libre de cabeza para la obtención de un modelo cinético de transpiración.
2. Analizar los cambios cinéticos de la velocidad de transpiración del germen de alfalfa en función del tratamiento y temperatura de almacenamiento mediante cambios en peso, humedad relativa y pruebas mecánicas que permitan relacionarlos con las propiedades fisicoquímicas del producto almacenado refrigerado.
3. Analizar los cambios de color y textura de germen de alfalfa mediante análisis de imagen y pruebas mecánicas para relacionarlos con el efecto de las condiciones de almacenamiento refrigerado en atmósferas modificadas activas y pasivas.

2.3 Selección y Justificación de variables

Debido a la naturaleza perecedera del germen de alfalfa, se busco establecer la mejor condición de almacenamiento (temperatura), que en primera instancia se vería reflejada en la velocidad de transpiración y por consiguiente en la calidad del producto. Algunos estudios demuestran que un tratamiento con etileno puede mejorar las características de la radícula del germen, aumentando el espesor y manteniendo su firmeza y color característico (Saltveit, 1999). Por ello se aplicaron diferentes tratamientos de conservación para establecer cual de estos tratamientos proporciona la mejor calidad al germen, así como la obtención de un mayor tiempo de conservación. En la Tabla 5 se presentan los factores antes mencionados.

Tabla 5. Selección de variables

Factor de Variación	Nivel de variación	Replicas	Variable dependiente	Variable de respuesta	Técnica o Instrumentación
Temperatura de almacenamiento	2°C	3	Pérdida de peso Dureza	Velocidad de transpiración	Método estático Balanza analítica Texturómetro
	5 °C				
	7°C				
Método de conservación (Tratamiento)	Etileno	3	Parámetros de color L*, a* y b* pH	ΔE Índice de decaimiento	Análisis de imagen Potenciómetro
	MAP				
	MAP y Etileno				

2.4 Materiales y Métodos

2.4.1 Acondicionamiento del frigorífico

Para mantener las temperaturas deseadas (2, 5 y 7 °C) durante la experimentación, fue necesario acondicionar el frigorífico (Figura 5). Se manipulo el termostato que se encuentra en el interior del frigorífico para ajustar la temperatura.

Se midió la temperatura y % H.R del medio de enfriamiento usando un termopar digital (LASCAR RH/Temperature Data Logger EL-USB 2 U.S.A) para obtener la historia térmica correspondiente. Todos los días de la experimentación fue monitoreada la temperatura con un termopar bimetálico en cada uno de los apartados acondicionados.



Figura 5. Acondicionamiento del frigorífico

2.4.2 Material Biológico y su pretratamiento

Se adquirió un lote de 5.5 Kg de germen de alfalfa procedente del mercado de Zumpango, se considero para su selección el color de la radícula (transparencia), libre de daños, tierra y pudriciones. En la Figura 6a se muestra la desinfección del germen de alfalfa con una solución de plata ionizada estable (0.04 ppm/10 minutos) y en la Figura 6b el drenado del agua de lavado para su posterior envasado. Al total del lote adquirido se le dividió en cuatro partes; a las cuales se les aplicó un tratamiento diferente (etileno, atmósferas modificadas, etileno más atmósferas y control).

Los lotes a los que se les aplico etileno fueron colocados en un sistema cerrado y se inyectó directamente al contenedor un flujo constante de etileno (100 kPa) durante 5 minutos y se almacenó en refrigeración (4 °C) por 18 horas, se envasaron y se almacenaron. Mientras que los lotes (sin etileno) fueron envasados en atmósferas modificadas activas y pasivas y almacenadas a 2, 5 y 7 °C. Las muestras fueron almacenadas durante dos semanas y se realizaron muestreos los días 0, 1, 2, 4, 7, 9 y 11 de almacenamiento.

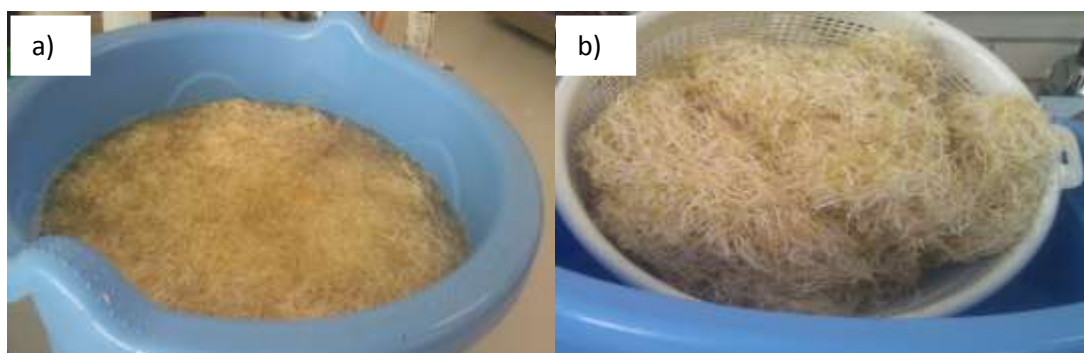


Figura 6. Lavado de la materia prima (germen de alfalfa).

2.4.3 Envasado en atmósferas modificadas

La Figura 7a muestra la envasadora tipo campana (Multivac Modelo A300 116) empleada para la generación de la atmósfera modificada se programaron las presiones de la envasadora de acuerdo a las necesidades del germen de alfalfa y del envase. El desplazamiento de aire se realizo a 150 mbar, la inyección de la mezcla de gases a 500 mbar y el tiempo de sellado fue de 1.8 s.

Una vez programada la envasadora, se tomaron muestras de 50 ± 1 g de germen y se colocaron en envases de polipropileno (media barrera) con las características de la Tabla 6. Las muestras solo con etileno y las muestras control (sin ningún tratamiento) se les desplazo el aire del interior del envase y se sellaron seguido de su almacenamiento (atmósferas pasivas). Las muestras con etileno mas atmósferas modificadas y las muestras solo con atmósferas modificadas (atmósferas activas) se les inyecto la mezcla de gases: 5 % CO₂/ 5 % O₂ / 90 % N₂ (INFRA, México) y se sellaron, seguido de almacenarlas.

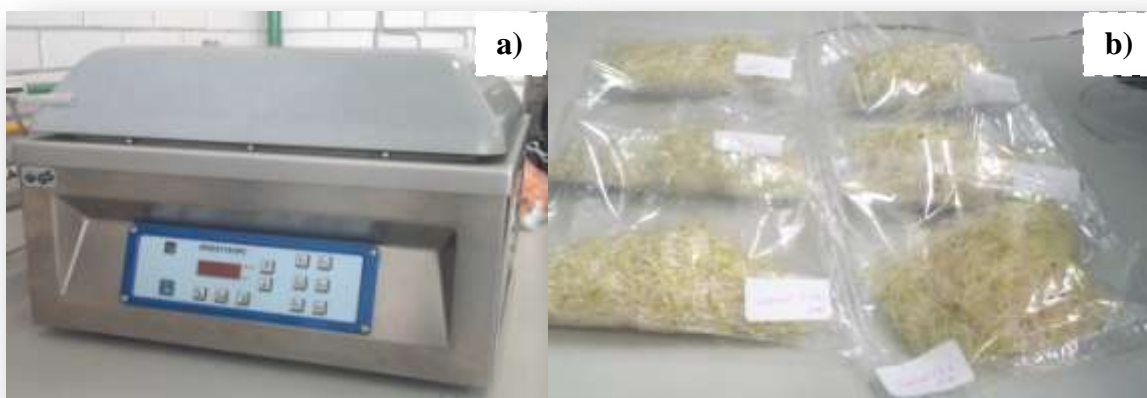


Figura 7. Envasado del germen de alfalfa.

Tabla 6. Hoja técnica del envase de media barrera

<i>Especificaciones Técnicas de material media barrera</i>			
Propiedades	Unidad de Medida	Rango	Pouch
Espesor promedio	mils	$\pm 7.0\%$	1.4
Peso unitario	g/m ²	$\pm 7.0\%$	35.35
Permeabilidad vapor de agua WVTR	g/100in ² /24hr@37.8°Cy90%HR	Mínimo	6.58
Permeabilidad a oxígeno	cc/100in ² /24hr/atm@23°C/0%HR	Mínimo	260.6
Temperatura de sellado	°C	100-115	
Resistencia de sello (rango de sello).	g/in @14 psi, 1 seg, 1800 máx.		
Ancho	%	-0,+2%	
Largo	%	-0,+2%	
Ancho del sello	mm.	2.0	
Labio	mm.	0 \pm 10	

2.4.4 Pérdida de peso

En la Figura 8 se muestra la forma en que se llevó a cabo la determinación de la pérdida de peso la cual fue considerada como el cambio de peso del envase más el germen desde el inicio de almacenamiento, hasta el final del almacenamiento. La diferencia entre estos valores se expresa como porcentaje de la pérdida de peso a través de un período de tiempo (dos semanas de almacenamiento) (Singh y col., 2012).

$$\% \text{Pérdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} * 100 \quad (9)$$



Figura 8. Balanza Digital.

2.4.5 Determinación de la velocidad de transpiración

La velocidad de transpiración se determinó por el método estático (Mahajan y col., 2008). En la Figura 9 se muestra la forma en que se realizó la prueba, se colocaron 10 g de germen de alfalfa en un frasco de vidrio hermético, el cual contenía una solución 50 % glicerol/ 50 % agua y se colocó dentro del frasco un termopar digital (LASCAR RH/Temperature Data Logger EL-USB 2 U.S.A) y se almacenaron las muestras a 2, 5 y 7 °C. Este termopar se programó para registrar datos (temperatura y humedad relativa) cada 5 minutos por 5 horas. Se registraron los pesos al inicio y final de la prueba para conocer la pérdida de peso del producto debido a su transpiración y con los datos de humedad relativa determinar cuánta agua se perdió durante el almacenamiento.



Figura 9. Método estático para determinar la velocidad de transpiración.

2.4.6 Textura (Firmeza)

La determinación de firmeza del germen de alfalfa se realizó con un Texturómetro Brookfield (Figura 10). Se realizó una prueba de corte. Se colocó una muestra de 8.5 g de forma aleatoria y se llevo a cabo la prueba, con las condiciones de la Tabla 7.



Figura 10. Texturómetro Brookfield

Tabla 7. Condiciones de la prueba de firmeza para el germen de alfalfa

Prueba	Cizalla
Test	Compresión
Sonda	TA 52
Elemento	TA-SBA
Carga de activación	0.07N
Velocidad de Test	0.5 mm/s
Valor meta	15 mm
Velocidad de vuelta	2 mm/s
Tiempo de espera	0 s

2.4.7 Determinación de color

Para la determinación de color se uso la técnica de Análisis de Imagen (Briones & Aguilera, 2005) donde una muestra aleatoria es colocada dentro de una caja oscura después de su almacenamiento. En esta caja se encuentra una cámara FUJIFILM (sin zoom ni flash), la cual está en un posición de 90° con respecto a la muestra, esta caja también está provista de lámparas en posición de 45° para maximizar la reflexión difusa. La imágenes tomadas se analizaron en el programa “Photoshop CS3” donde las imágenes del germen se digitalizaron en pixeles y estos datos se transformaron a los valores de L*, a* y b* para determinar el cambio de color durante el almacenamiento, con la ecuación 10 (Singh y col., 2012).



Figura 11. Caja oscura

$$\Delta E = [(L_f - L_i)^2 + (a_f - a_i)^2 + (b_f - b_i)^2]^{0.5} \quad (10)$$

2.4.8 Determinación de pH

Para la determinación de pH se utilizó una relación 1:4 (producto y agua destilada). Se tomaron 10 g de germen de alfalfa y se mezclaron con 40 ml de agua destilada, obtenida la muestra se midió el pH con el potenciómetro. Se midió el pH del germen antes de su envasado y el día correspondiente de su muestreo (Singh y col., 2012).



Figura 12. Potenciómetro HANNA 213.

2.4.9 Índice de decaimiento

Para determinar el índice de decaimiento se tomo una muestra aleatoria de germen, se observo por el Microscopio Digital (75% de zoom y 50% de luz) y se tomaron imágenes las cuales ayudaron a determinar el deterioro del germen a través del tiempo de almacenamiento a diferentes condiciones (tratamiento-temperatura), siguiendo la escala de la Tabla 8.



Figura 13. Microscopio digital

Tabla 8. Escala hedónica para el germen de alfalfa (Modificación de DeEll y col., 2000)

Escala	Parámetro	Descripción
2	Pobre	Obscurecimiento total y mayor humedad
4	Inaceptable	Mayor obscurecimiento con aparición de viscosidad
6	Aceptable	Aparición de obscurecimiento en la radícula
8	Bueno	La radícula amarilla
10	Excelente	Radícula blanca y brillante/cotiledones verdes-amarillos

2.5 Modelo cinético de transpiración

Con la obtención de la velocidad de transpiración del germen, se utilizó la ecuación de Arrhenius (ecuación 3) para poder determinar la energía de activación (E_a) (Fonseca y col., 2002). Una vez obtenida la E_a se determinó el orden de la reacción de cada uno de los tratamientos con las ecuaciones 6 ($n=0$) y 7 ($n=1$), eligiendo el orden de la reacción por medio del método integral gráfico (Van Boekel, 2009).

2.6 Tratamiento estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el programa Minitab 14^{MR}, realizando un ANOVA y una comparación de media con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

CAPÍTULO III: ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Determinación de pérdida de peso

En la Figura 14 se muestra la pérdida de peso de las diferentes muestras durante las dos semanas de almacenamiento; todas las muestras se encuentran en un intervalo de 0.5- 3 % de pérdida de peso ya que si el producto pierde más del 10 % de peso se empieza a marchitar y acelerar su decaimiento (Goyal y Siddiqui, 2012).

Las muestras que tuvieron menor pérdida de peso fueron las muestras control (Figura 14a) y las muestras tratadas con etileno (Figura 14b); las primeras tuvieron una menor pérdida de peso del 0.56 % aproximadamente. Estos resultados son atribuidos a que las muestras estaban envasadas en atmósferas modificadas pasivas por lo tanto el producto tomo determinado tiempo para alcanzar el equilibrio, el cual está en función de la temperatura y humedad relativa del almacenamiento (Ospina y Cartagena, 2008).

Las muestras con mayor pérdida de peso (1.18 %) fueron las muestras envasadas en atmósferas modificadas más el pretratamiento con etileno (Figura 14d), independientemente de la temperatura fueron las que mayor pérdida de peso tuvieron, debido a la interacción de la mezcla de gases inyectada con el etileno (atmósferas activas) que aceleraron la velocidad de transpiración, mientras que las muestras solo con la aplicación de etileno tienen menor pérdida (0.74 %), en comparación con las muestras anteriores, por estar envasadas de forma pasiva.

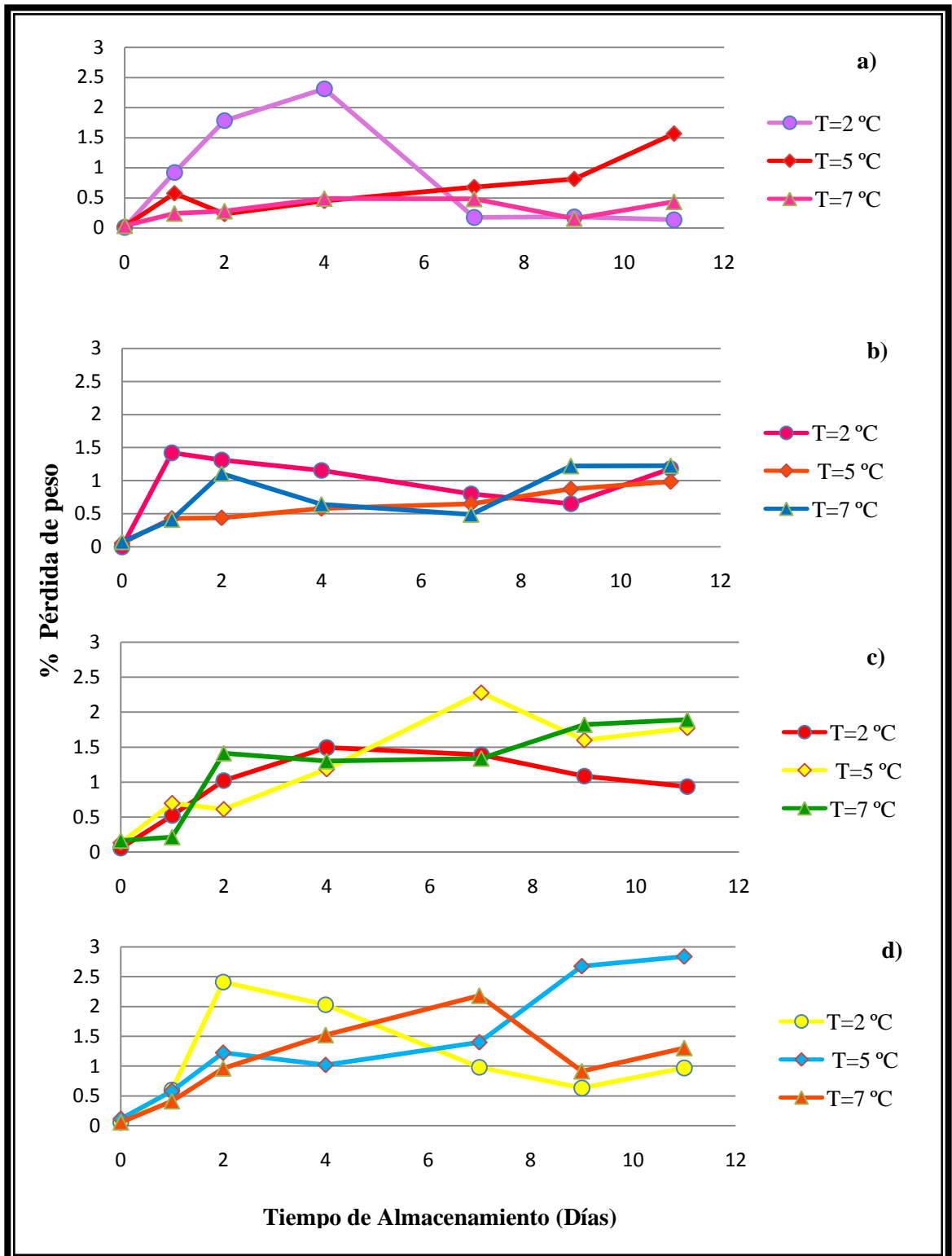


Figura 14. Pérdida de peso de las muestras durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmosferas modificadas y d) Atmosferas modificadas más etileno.

Resultados similares de las muestras de etileno reportaron Singh y col. (2012) para brotes de garbanzo envasados en atmósferas modificadas. El porcentaje de pérdida de peso al término de 7 días de almacenamiento fue menor en las películas de polipropileno (PP) que en las películas de polietileno de baja densidad (LDPE) ya que las medias evaluadas no fueron significativas ($p \geq 0.05$); la máxima pérdida de peso que obtuvo fue de 0.982 % en envases LDPE con un peso de 200 g.

En función a la aplicación del tratamiento, Cheema y col. (2013) realizaron un estudio donde aplicaron diferentes tratamientos en las raíces de camote y reportaron que en el caso del tratamiento de etileno + aire, se obtuvieron pérdidas de peso del 8 %. Estos resultados son muy grandes comparados con la experimentación, ya que las raíces de camote estaban almacenadas a 25 °C, mientras que la temperatura más baja que se maneja en la experimentación fue de 7 °C, además de estar envasadas en atmósferas pasivas; estos resultados obtenidos por Cheema y col. (2013) sirven para justificar que la aplicación de etileno acelera la respiración y transpiración de los productos frescos y como consecuencia hay mayor pérdida de peso.

En cuanto a la temperatura, las muestras que tuvieron menor pérdida de peso son las de 2 °C, la disminución de temperatura disminuye los procesos metabólicos, en consecuencia retrasa la velocidad de transpiración, mientras que a altas temperaturas en este caso 7 °C aumento la pérdida de peso reflejándose en el espacio libre de cabeza; en el cual las muestras presentaban alta condensación de agua.

El aumento de temperatura de un extremo a otro no es muy grande, pero si es evidente la diferencia en la pérdida de peso de las muestras. Por ejemplo para el caso de las muestras envasadas en atmósferas modificadas (Figura 14c) en el día 11 de almacenamiento a 2 °C tiene una pérdida de peso de 0.94 %, mientras que a 7 °C se obtuvo una pérdida del 1.89 % en peso. Tano y col. (2007) reportaron datos de hongos y brocoli envasados en atmósferas modificadas y almacenados a diferentes temperaturas. En los hongos se obtuvieron pérdidas de peso del 2 % almacenados a 4 °C, mientras que a 13 °C, se obtuvo una pérdida de 2.9 % en el día 12 de almacenamiento. En el caso del brocoli se obtuvieron pérdidas del 2.9 % a 3 °C y fue mayor la pérdida de peso a 13 °C (4.9 %), en el día 30 de almacenamiento.

En la Figura 14 se observa que durante el periodo de almacenamiento las pérdidas de peso fueron muy variables, es decir, no siguieron un comportamiento normal. Sin embargo, a pesar del tratamiento que se aplicó al germen de alfalfa y la temperatura de almacenamiento a la que fue sometido no hay diferencias significativas entre los factores ($p \geq 0.05$).

Debido a que hay poca información en la literatura de la conservación del germen de alfalfa, para poder justificar los resultados obtenidos en la experimentación se utilizaron estudios de productos vegetales que tuvieran una tasa de respiración similar al germen, además de la aplicación de etileno y atmósferas modificadas como método de conservación.

El germen de alfalfa como ya se había visto anteriormente es de naturaleza muy perecedera debido a su alta tasa de respiración. La aplicación de atmósferas modificadas pasivas y activas en el germen de alfalfa no provocó pérdidas mayores del 5 %, debido a que la humedad relativa del medio de enfriamiento siempre se mantuvo entre el 80-95 %. Osorio Cordoba y col. (2011) reportaron pérdidas de peso del 2 % en nopales con espina y envasados en atmósferas modificadas (activas y pasivas), que se almacenaron a 5 °C durante 25 días, mientras que los nopales sin espina envasados en “clamshells” y almacenados a 4 °C tuvieron una pérdida de peso $\geq 10\%$.

También DeEll y col. (2000) realizaron un estudio donde enfriaron germinados de frijol mungo al vacío y obtuvieron pérdidas de peso del 7.5 % a 9 °C. Una pérdida de peso del 2-4 % es común durante el enfriamiento al vacío, pero este nivel puede causar marchitamiento, como por ejemplo en los vegetales de hoja. Como se observa, se puede determinar que en comparación con otros métodos de conservación de brotes (germinados) y otros vegetales, así como el tratamiento al que se les puede someter, en la experimentación se obtuvieron buenos resultados, en cuanto a la pérdida de peso; ya que una alta pérdida de peso ocasiona pérdidas económicas importantes así como también cambios indeseables en la calidad final del producto.

3.2 Determinación de la velocidad de transpiración

La velocidad de transpiración del germen de alfalfa se muestra en la Figura 15. Las muestras con aplicación de etileno y atmósferas modificadas inician con una velocidad de transpiración baja 3-4 g/ kg h (Figura 15b-c), mientras que las muestras control comienzan con una transpiración de 6.5-8.5 g/ kg h (Figura 15a); estas últimas muestras tenían una velocidad más alta debido a que no tenían ningún tratamiento y estaban envasadas en una atmósfera pasiva, por lo cual requería tiempo para que el sistema (producto-atmósfera) encontrara su equilibrio y disminuyera su respiración.

Las muestras de etileno, atmósferas modificadas y etileno más atmósferas modificadas presentaron un incremento en la velocidad de transpiración en los días 1 y 2 de almacenamiento. Para el caso de las muestras solo con etileno (Figura 15b), inicialmente tuvieron una velocidad de transpiración de 3.65 a 3.96 g/ kg h; las muestras almacenadas a 5 y 7 °C tuvieron una velocidad de transpiración de 7.56 g/ kg h y 7.62 g/ kg h respectivamente, mientras que a 2 °C tuvo una velocidad de transpiración de 5.34 g/ Kg h en primer día de almacenamiento.

Los resultados anteriores se atribuyen a que las muestras con etileno se encontraban en un período de adaptación, en donde el germen de alfalfa se estabilizaba a las nuevas condiciones de su atmósfera, por ello el incremento en su velocidad de transpiración, además que estas muestras estaban envasadas en atmósferas modificadas pasivas. También el aumento en la velocidad de transpiración está en función de la temperatura; a temperaturas de 5 y 7 °C la velocidad de transpiración aumento aproximadamente 4 g/ kg h y a 2 °C aumento solo 1.38 g/ kg h. Después de la adaptación de las muestras la velocidad de transpiración fue disminuyendo durante el período de almacenamiento; dando velocidades de transpiración finales de 1.09, 1.19 y 3.45 g/ kg h, para 2, 5 y 7 °C respectivamente en el día 11 de almacenamiento (Figura 15b).

Las muestras envasadas en atmósferas modificadas (Figura 15c) y las de etileno más atmosferas modificadas (Figura 15d) tuvieron un comportamiento similar. En estas muestras hubo una disminución de la velocidad de transpiración en la temperatura de

almacenamiento de 2 y 5 °C, mientras que a 7 °C aumento la transpiración en el primer día de almacenamiento. En el segundo día de almacenamiento sucedió todo lo contrario las que habían disminuido su velocidad aumentaron y las que había aumentado su velocidad disminuyeron. Estos resultados son retirados del análisis, puesto que la prueba de transpiración a las primeras horas de la experimentación se llevo a cabo a temperatura ambiente y después a la temperatura correspondiente de almacenamiento; el tiempo fue insuficiente para obtener la velocidad de transpiración real de estas muestras, por ello se tomarán los resultados a partir del día 4 de almacenamiento.

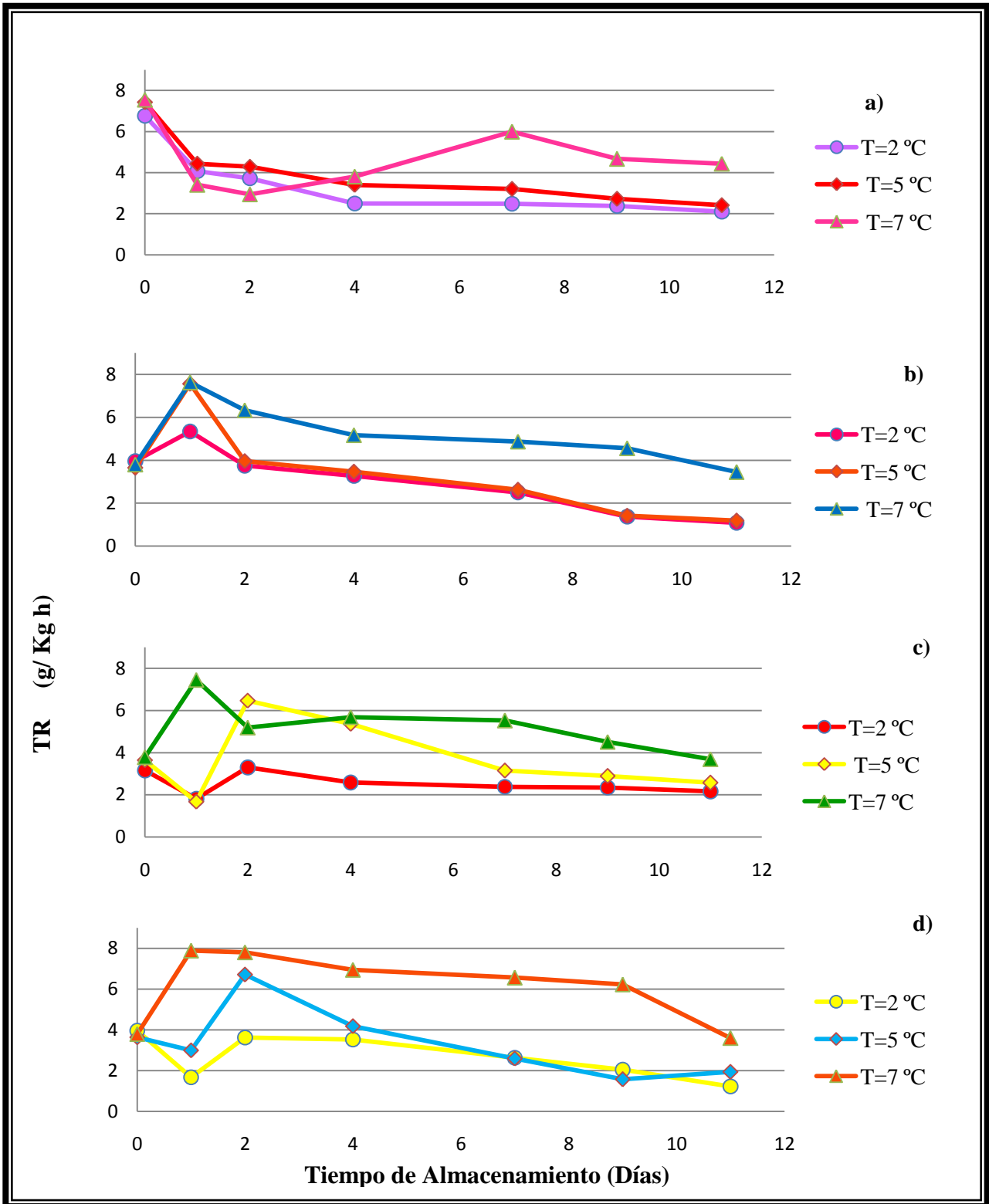


Figura 15. Velocidad de transpiración en germe de alfalfa. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

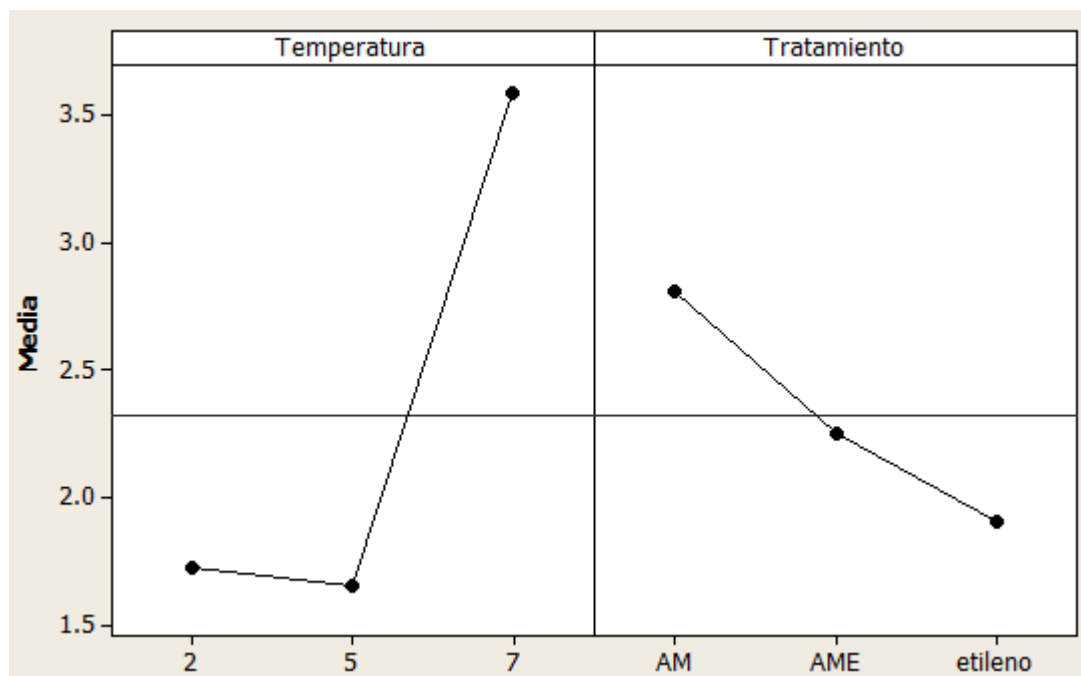


Figura 16. Efectos principales sobre la velocidad de transpiración

En la Figura 16 se muestra los efectos principales de la temperatura y el tratamiento aplicado al germen de alfalfa en la velocidad de transpiración. En la temperatura de almacenamiento hay diferencias significativas durante los muestreos ($p \leq 0.05$); ya que a 7 °C se obtienen las velocidades de transpiración más altas, mientras que a 2 y 5 °C al termino del almacenamiento las velocidades finales de transpiración eran similares, siendo más baja la velocidad de transpiración a 2 °C.

Las muestras con aplicación de etileno (E y AME) y almacenadas a 7 °C (Figuras 15b y 15d) tuvieron una velocidad de transpiración más baja en comparación con las muestras de atmósferas modificadas almacenadas a la misma temperatura, puesto que estas últimas se conservaban aún en buenas condiciones, lo cual garantiza que el envasado en atmósferas modificadas disminuyó su velocidad de respiración y por consecuencia la transpiración del germen. En el día 11 de almacenamiento se obtuvo una velocidad de transpiración de 3.69 g / kg h para las muestras envasadas en atmósferas modificadas (Figura 15c) y para las muestras de etileno y atmósferas modificadas más etileno se obtuvieron velocidades de 3.45 y 3.60 g/ kg h respectivamente (Figura 15b y 15d).

Aunque no es grande la diferencia entre las velocidades de transpiración obtenidas, la aplicación de etileno si tiene efecto en las muestras ($p < 0.05$); la temperatura aceleró la acción del etileno causando ablandamiento y mayor índice de deterioro, además de malos olores en las muestras, en comparación con las muestras de atmósferas modificadas almacenadas bajo las mismas condiciones.

En cuanto al tratamiento aplicado al germen no hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Sin embargo, las muestras con mayor velocidad de transpiración al final del almacenamiento son las que se envasaron en atmósferas modificadas (Figura 16c); al término del almacenamiento se conservaban aún en buenas condiciones (solo las muestras almacenadas a 2 °C), teniendo como posibilidad extender más su tiempo de almacenamiento. Mientras las muestras con aplicación de etileno (E y AME) en el día 9 de almacenamiento eran visiblemente inservibles. Mahajan y col. (2008) reportaron la velocidad de transpiración para hongos enteros almacenados a 4 °C y 76 % de HR; obteniendo una velocidad de transpiración 5.2 g/ kg h en el día 7 de almacenamiento. Esta alta velocidad de transpiración se debe a que los hongos no tienen una piel protectora, lo cual ocasiona que haya mayor pérdida de humedad y por lo tanto mayor pérdida de peso. Al contrario de los jitomates, que estos si tienen una piel protectora, se obtuvo una velocidad de transpiración de 0.208 g / kg h (Leonardi y col., 2000).

Los datos obtenidos en la experimentación no fueron mayores de 4 g/ kg h a pesar de la temperatura de almacenamiento aplicada y esto es debido a la alta humedad relativa que habia dentro del envase (80-95 % HR); la humedad relativa es un factor que determina la velocidad de transpiración, entre mayor sea está menores son las pérdidas de peso en un producto (Becker y col. 1996). Pero del mismo modo tampoco es favorable una humedad relativa alta ya que puede propiciar el crecimiento de microorganismos, en especial de bacterias que son las que crecen en ambientes con alta humedad; tal es el caso de las muestras con aplicación de etileno, las cuales en el espacio libre de cabeza había mayor cantidad de condensados debido a su alta humedad (93-96.5 % HR) ocasionada por la acción del etileno.

3.3 Textura (Firmeza)

La pérdida de textura es el cambio más notable que ocurre en frutas y verduras durante su almacenamiento ya que está relacionado con los procesos metabólicos (respiración, transpiración, etc.) En el caso del germen de alfalfa si no es almacenado a las condiciones adecuadas empieza a ablandarse y a perder esa característica “crujiente”, además de presentar signos de deterioro como el mal olor o formación de viscosidad (Varoquaux y col., 1996). Por ello se almacenó el germen a tres diferentes temperaturas con los diferentes tratamientos para determinar en que condiciones el germen comienza a perder su firmeza. Como se muestra en la Figura 17a, las muestras con mayor firmeza son los controles ya que son los que requieren mayor fuerza para poder realizarse el corte (55-65 N), esto es debido a que no tenían ningún tratamiento y mantuvieron su firmeza los primeros 7 días de muestreo, teniendo un ligero decrecimiento en los últimos días de muestreo en comparación con las otras muestras.

Las muestras tratadas con etileno presentaron una fuerza al corte de 53-60 N (Figura 17b), en comparación de las muestras control; la aplicación de etileno en el germen hizo que se ablandaran las muestras. Por otra parte las muestras de etileno más atmósferas modificadas (Figura 17d) fueron las que tuvieron menor firmeza (50-55 N), esto se atribuye a su alta velocidad de transpiración y temperatura de almacenamiento; las altas temperaturas aceleran la acción del etileno, teniendo como consecuencia el aumento en la velocidad de transpiración y por lo tanto hay mayor condensación en el espacio libre de cabeza causando que el germen se humedeciera y al mismo tiempo se ablandara perdiendo así su firmeza.

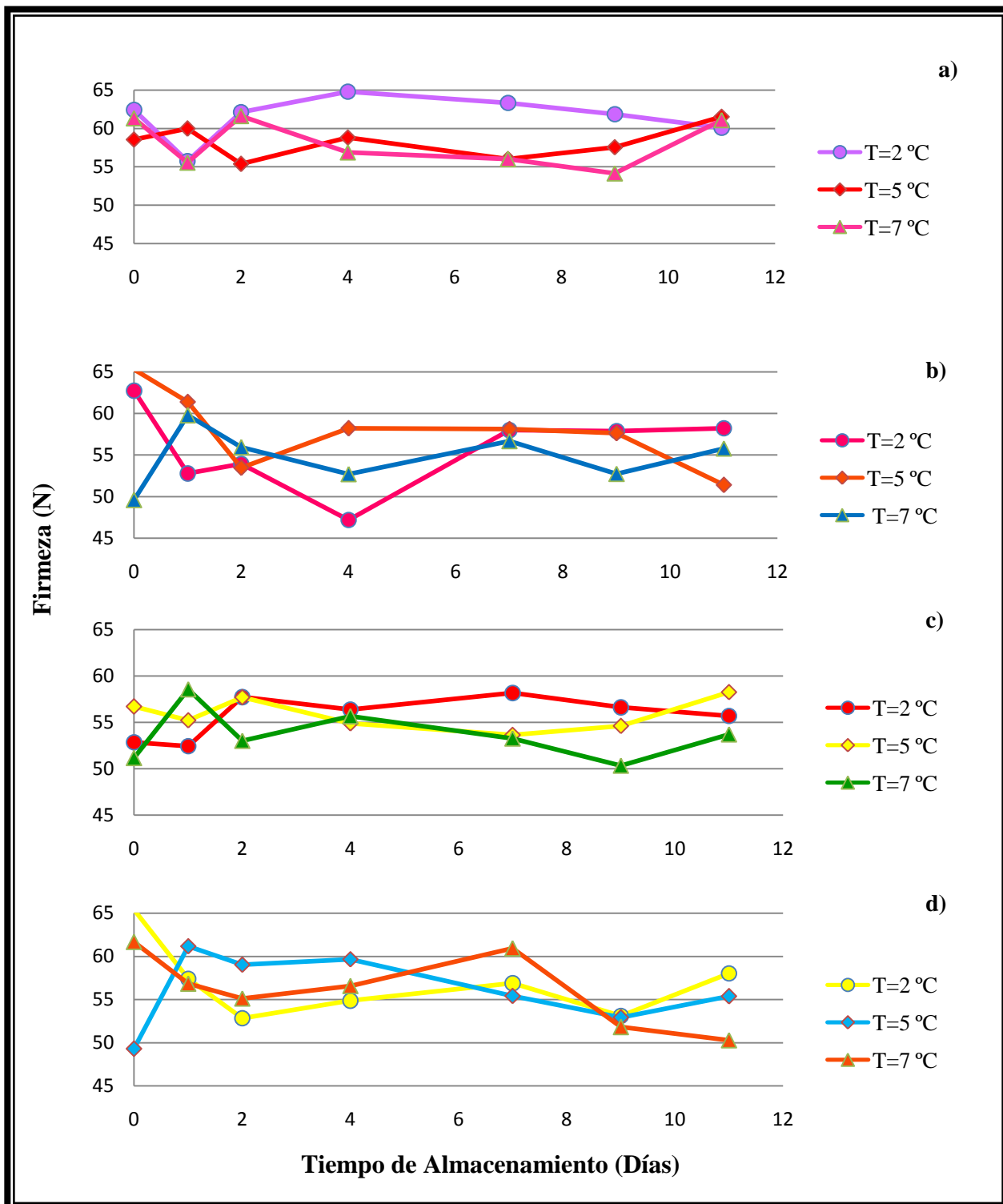


Figura 17. Cambio de firmeza en el germen de alfalfa durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

Las muestras solo con atmósferas modificadas (Figura 17c) en comparación con las otras muestras, fueron las que mantuvieron su firmeza a través del tiempo ya que no hubo diferencias significativas durante los muestreos ($p \geq 0.05$). Osorio y col. (2011) reportaron la firmeza de nopales sin espinas almacenados en atmósferas modificadas pasivas y activas a 4 °C; en el día 25 de almacenamiento se obtuvo una firmeza de 25.68 N (atmósferas activas) y 29.28 N (atmósferas pasivas); mientras que en la experimentación se obtuvo una firmeza de 56.61 N en el día 11 de almacenamiento en atmósferas modificadas a 2 °C, este resultado es atribuido a la alta humedad realtiva dentro del envase evitando una pérdida excesiva de agua y peso en los tejidos manteniendo la firmeza y frescura del producto.

Singh y col. (2012) reportaron la dureza de brotes de garbanzo envasados en atmósferas modificadas y almacenados a 10 °C, donde inicialmente las muestras tenían una dureza de 786.20 N. La dureza fue disminuyendo a través del tiempo; al día siete de almacenamiento los brotes de garbanzo tenían una dureza de: 655.07, 667.49 y 705.7 N, los cuales correspondían a 100, 150 y 200 g de producto respectivamente. También Varoquaux y col. (1996) reportaron la firmeza de brotes de frijol fresco, teniendo como firmeza inicial 0.0015 N, la cual se mantuvo constante durante su almacenamiento a 8 °C por 7 días.

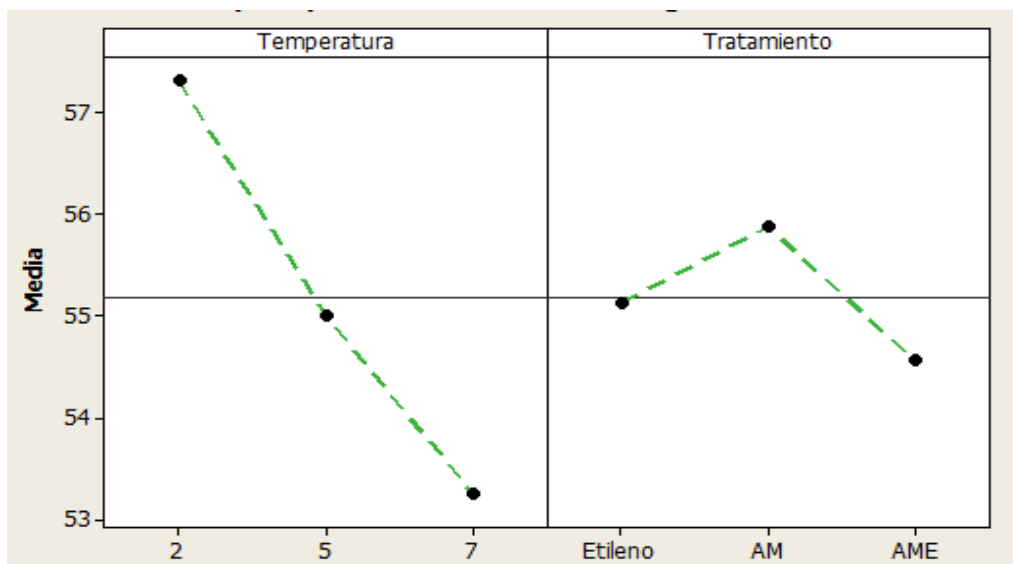


Figura 18. Efectos principales de la firmeza en el germen de alfalfa.

De los resultados reportados por los autores y de los diferentes tipos de germinados, se obtienen resultados diferentes, ya que como se sabe ningún producto tiene la misma composición además de que no son tratados, envasados o almacenados a las mismas condiciones, cada producto tiene una necesidad diferente. En el único producto en el que se obtiene resultados casi similares, es el nopal sin espinas, donde se usan atmósferas modificadas activas y pasivas, al igual que en la experimentación.

En la Figura 18 se muestran los efectos principales del tratamiento que se le aplicó al germen y de la temperatura a la cual fue almacenado, sobre el cambio de textura en el germen de alfalfa. El cambio de firmeza en el germen de alfalfa, está relacionado directamente con el cambio de temperatura durante el almacenamiento. Como se observa en la Figura 18, donde se obtuvo menor pérdida de firmeza fue en la temperatura de 2 °C; ya que un aumento de la temperatura aumenta la velocidad de respiración de los productos frescos y como consecuencia aumenta la velocidad de transpiración. Donde se observó mayor pérdida de firmeza fue en las muestras almacenadas a 7 °C, ya que como se mencionó antes, en el espacio libre de cabeza se formaron mayor cantidad de condensados, provocando que el germen se humedeciera y perdiera su firmeza así como también se empezará a deteriorar rápidamente.

En cuanto al tratamiento al que fue sometido el germen de alfalfa se observa que el que obtuvo mejor firmeza fue el germen envasado en atmósferas modificadas, seguido de la aplicación de etileno y por último las muestras de etileno más atmósferas modificadas, estos resultados se le atribuyen a que el etileno acelera los procesos metabólicos, haciendo que los cambios en cuanto a calidad sean notables más rápidamente. A pesar de estos resultados el cambio de textura durante el almacenamiento no tuvo diferencias significativas ($p \geq 0.05$). A partir de estos resultados se determina que la aplicación de atmósferas modificadas y un almacenamiento a 2 °C mantienen mejor la firmeza del germen de alfalfa durante el almacenamiento de 2 semanas.

3.4 Determinación de color

En la Figura 19 se muestra el cambio total de color durante el almacenamiento de las muestras. Las muestras que tuvieron menor cambio de color fueron las muestras almacenadas a 2 °C, con excepción del control (Figura 19a), el cual se mantuvo en el intervalo de las muestras almacenadas a 5 °C (20-35 %).

Como se observa el cambio de color en el germen de alfalfa es proporcional a la temperatura de almacenamiento. En cuanto al tratamiento, las muestras que presentaron mayor cambio de color fueron las muestras con aplicación de etileno (Figura 19b) y las muestras de etileno más atmósferas modificadas (Figura 19d), teniendo un cambio de color total del 16.33 y 17 % respectivamente en el día 11 de almacenamiento, estas muestras se oscurecieron completamente y presentaban formación de viscosidad. Mientras que las muestras de germen envasadas en atmósferas modificadas y control (sin ningún tratamiento) tuvieron un cambio de color de 9 % y 14 % respectivamente.

Singh y col. (2012) reportaron el cambio total de color de brotes de garbanzo en el día 7 de almacenamiento de 6.14, 6.54 y 7.69 % en películas de PP y 6.56, 8.74 y 8.77 en películas de LDPE. En las películas de PP hay un cambio de color menos significativo, lo que indica que la atmósfera en el envase era adecuado para mantener las características de color del envasado de brotes de garbanzos. Estos datos obtenidos se asemejan con las muestras envasadas en atmósferas modificadas de la experimentación ya que se obtuvo el 9 % de pérdida de color durante el almacenamiento; y la pérdida es aún menor cuando se almacenan a 2 °C (Figura 19c).

Osorio Cordoba y col. (2011) reportaron que no observaron cambios significativos en el almacenamiento de nopales durante el período de almacenamiento y tampoco por efecto de los tratamientos, ya que en el último día de almacenamiento se obtuvo un cambio de color de 2.64-2.66 % en las muestras envasadas en atmósferas modificadas y solo presentaron un ligero cambio de su color verde brillante a un verde opaco.

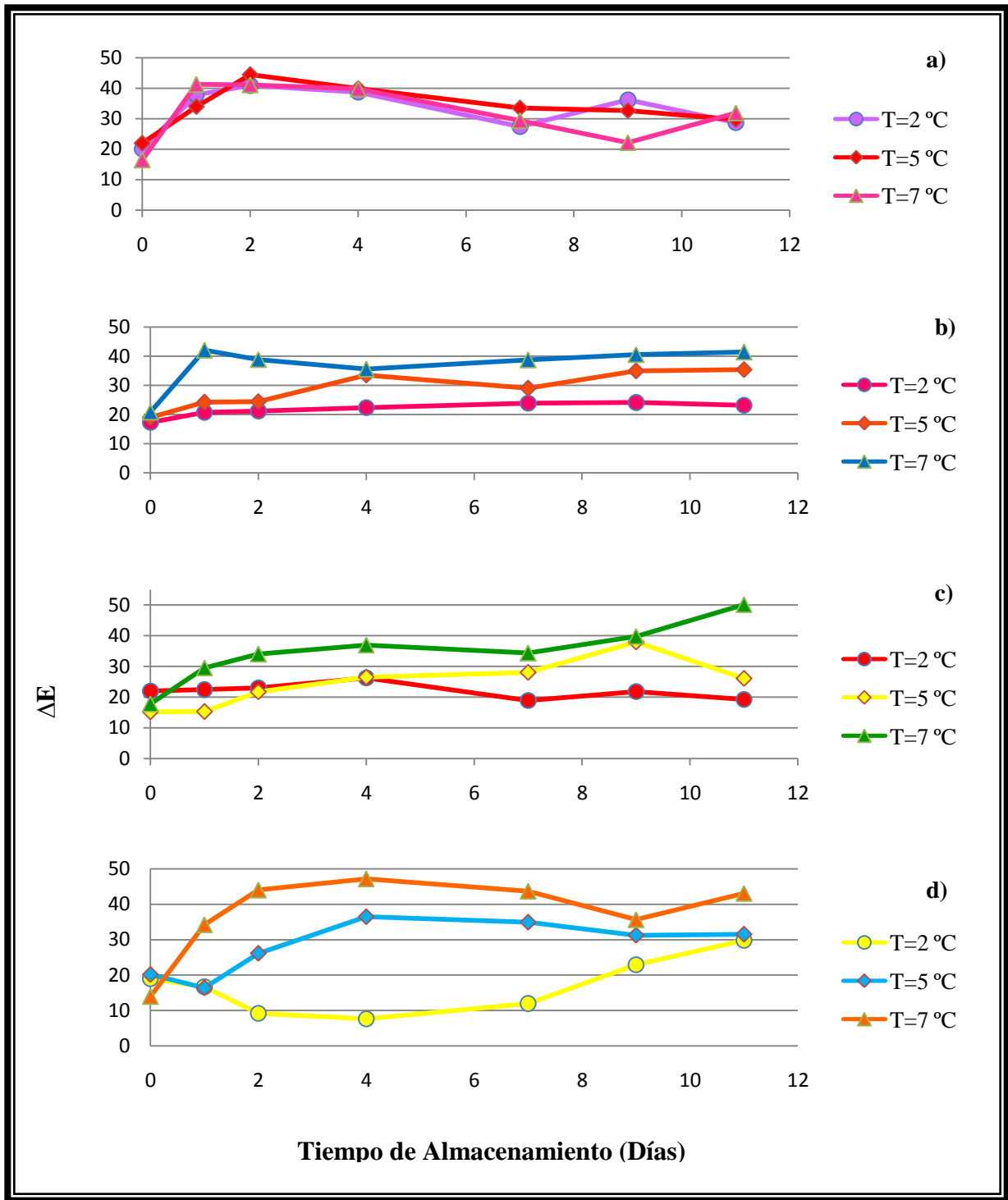


Figura 19. Cambio de color en el germen de alfalfa. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmosferas modificadas y d) Atmosferas modificadas más etileno.

En la Figura 20 se muestra el cambio de luminosidad del germen a través del período de almacenamiento. Los valores de L^* en el germen de alfalfa decrecen desde el primer día de almacenamiento. Este comportamiento fue reportado por Singh y col. (2012) donde los valores de L^* de brotes de garbanzo disminuyeron desde el primer día de almacenamiento; los resultados obtenidos del estudio no tienen una gran diferencia con los obtenidos en la experimentación, ya que en el estudio va de un valor de L^* igual a 70 a un valor final de 40 aproximadamente.

En este caso a pesar de usar diferentes tratamientos no difieren del estudio anterior. Las muestras que mantuvieron la luminosidad fueron las muestras almacenadas a 2 °C ($L^*=60-80\%$), mientras que las almacenadas a 7 °C perdieron la luminosidad a partir del día 2, entre un 20 y 15 %. Así mismo las muestras solo con atmósferas modificadas (Figura 20c) no tuvieron gran cambio a través del almacenamiento, al contrario de las que tenían etileno y se envasaron en atmósferas (Figura 20d), esas muestras perdieron la luminosidad obteniendo valores bajos con respecto a los otros tratamientos ($L^*=40-55$), a excepción de las almacenadas a 2 °C, estas muestras mantuvieron un valor de $L^*=80$ por 5 días.

En un estudio de envasado de brotes de frijol en atmósferas modificadas (Varoquaux y col., 1996), el valor de L^* inicial fue alrededor del 84 % y se mantuvo constante durante 12 días, excepto en las películas más permeables; ya que en el día 5 y 9 de almacenamiento se observó una disminución del 75 % de luminosidad para el producto envasado en películas de P+100 000 y P+200 000 respectivamente (Varoquaux y col., 1996). En la experimentación la mayor pérdida de luminosidad se obtuvo en las muestras envasadas en atmósferas modificadas más etileno a 7 °C, teniendo una pérdida de L^* del 30 % en el día 11 de almacenamiento (Figura 20d).

En un estudio realizado para determinar la velocidad de respiración de lechugas mínimamente procesadas (Tano y col., 2007), se evaluó la pérdida de luminosidad durante su almacenamiento, dando como resultados que no hubo un cambio significativo de la luminosidad; los valores de L^* en la mezcla de hojas blancas y verdes variaron entre 34.5

± 2.6 , en una escala de 0-100. Cuando los productos tienen una luminosidad del 70 % se considera un color aceptable para el caso de hongos almacenados a 4 °C y envasados en atmósferas modificadas, se obtuvieron valores de L^* de 76.1 después de 12 días de almacenamiento, determinando que a esas condiciones el producto solo pierde el 8.2 % de luminosidad. Mientras que en la conservación de brocoli, almacenado a 3 °C y envasado en atmósferas modificadas se obtuvo un valor de $L^*=39$ después de 30 días de almacenamiento, presentando obscurecimiento en la mayor parte del producto convirtiéndolo en inaceptable.

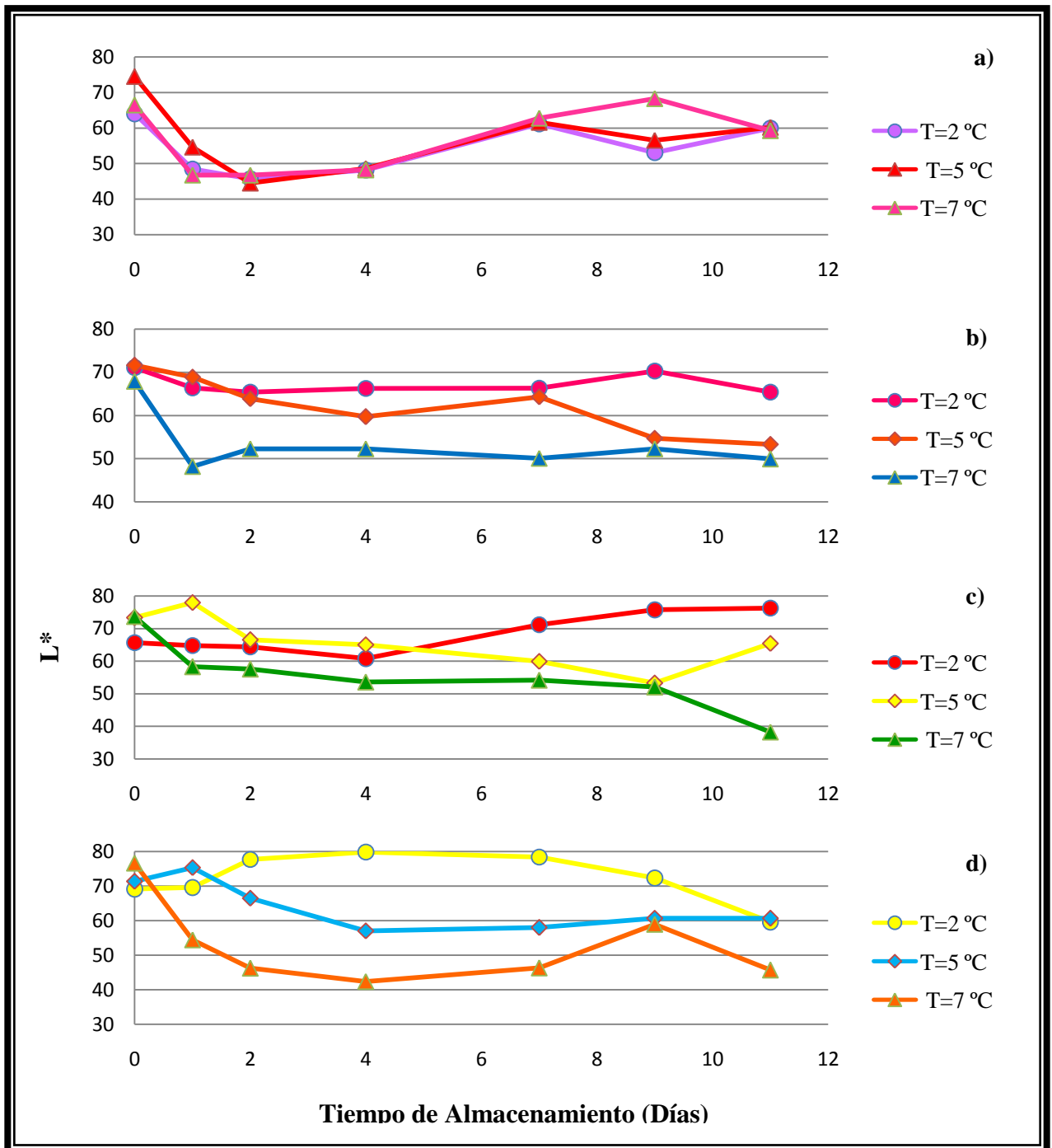


Figura 20. Cambio de Luminosidad (L*) del germe de alfalfa durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

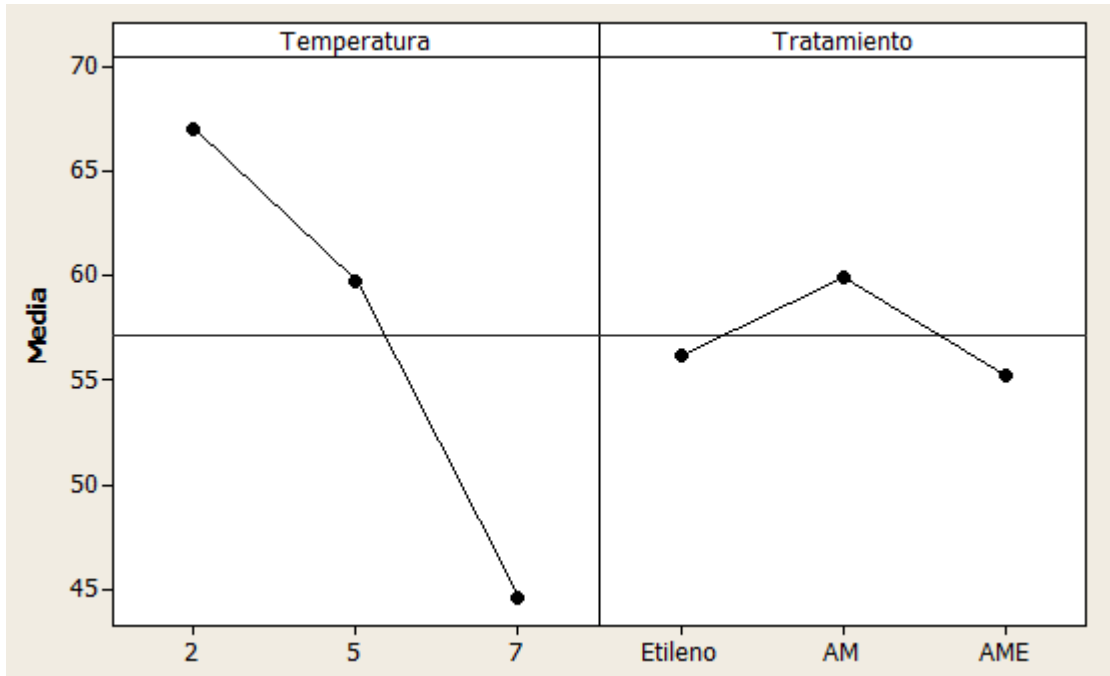


Figura 21. Efectos principales de L* en el germen de alfalfa durante el almacenamiento.

En la Figura 21 se presentan los efectos principales de los factores en la luminosidad del germen de alfalfa. Como se observa la temperatura de almacenamiento tiene efecto directo sobre el valor de L*; como ya se había visto las muestras almacenadas a 2 °C son las que tienen mayor luminosidad, mientras que las almacenadas a 7 °C son las de menor luminosidad, esto es debido a que el aumento de temperatura acelera la respiración y con ello los procesos de oscurecimiento. En el tipo de tratamiento aplicado en el germen de alfalfa no hay diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Como se observa en la Figura 21, las muestras envasadas en atmósferas modificadas tienen mayor luminosidad, seguido de las muestras con etileno y por último las muestras de etileno más atmósferas modificadas, la aplicación de etileno promueve la senescencia en el germen de alfalfa, además que el cambio de luminosidad está relacionada con la temperatura de almacenamiento como se mencionó anteriormente.

El parámetro a* también indica el cambio de color en los vegetales, este parámetro nos indica el cambio de color de verde (valores negativos) a rojo (valores positivos). En la Figura 22 se muestra el cambio de este parámetro a través del tiempo de almacenamiento,

observando que las muestras que presentaron un aumento del parámetro a^* al primer día fueron las muestras control (Figura 22a) y las muestras de etileno más atmósferas modificadas almacenadas a 7 °C (Figura 22d), para después presentar un decaimiento en valor de a^* , esto se debe a la adaptación del germen a su nueva atmósfera, presentando así inicialmente oscurecimiento en algunas zonas de la muestra (muestra aleatoria).

En las muestras de etileno (Figura 22b) el comportamiento del cambio de a^* no fue normal, ya que los resultados obtenidos en los días 2, 7 y 11 los valores de a^* eran más bajos (-8 a -6), mientras que en los otros días de muestreos (1, 4 y 5) eran de -2 a 1. La variación de estos últimos resultados puede ser atribuida al acomodo de las muestras dentro del frigorífico, ya que las muestras estaban sobre puestas unas con otras y la distribución del medio de enfriamiento (aire) no fue homogénea, además de que el etileno promueve la pérdida de clorofila, viéndose reflejada con mayor énfasis en la temperatura de almacenamiento de 7 °C.

Las muestras envasadas en atmósferas modificadas tuvieron los valores de a^* más bajo, especialmente en las temperaturas de almacenamiento de 2 y 5 °C, ya que en el día 11 de almacenamiento se obtuvieron valores de -6 y -10 respectivamente. Del Nobile y col. (2006) obtuvieron resultados similares en las lechugas Iceberg y Romana con valores de a^* de -9.4 ± 2.2 y -11.9 ± 1.1 respectivamente en el día 10 de almacenamiento. Mientras que las muestras de etileno más atmósferas modificadas el valor más bajo de a^* se obtuvo en las muestras almacenadas a 2 °C.

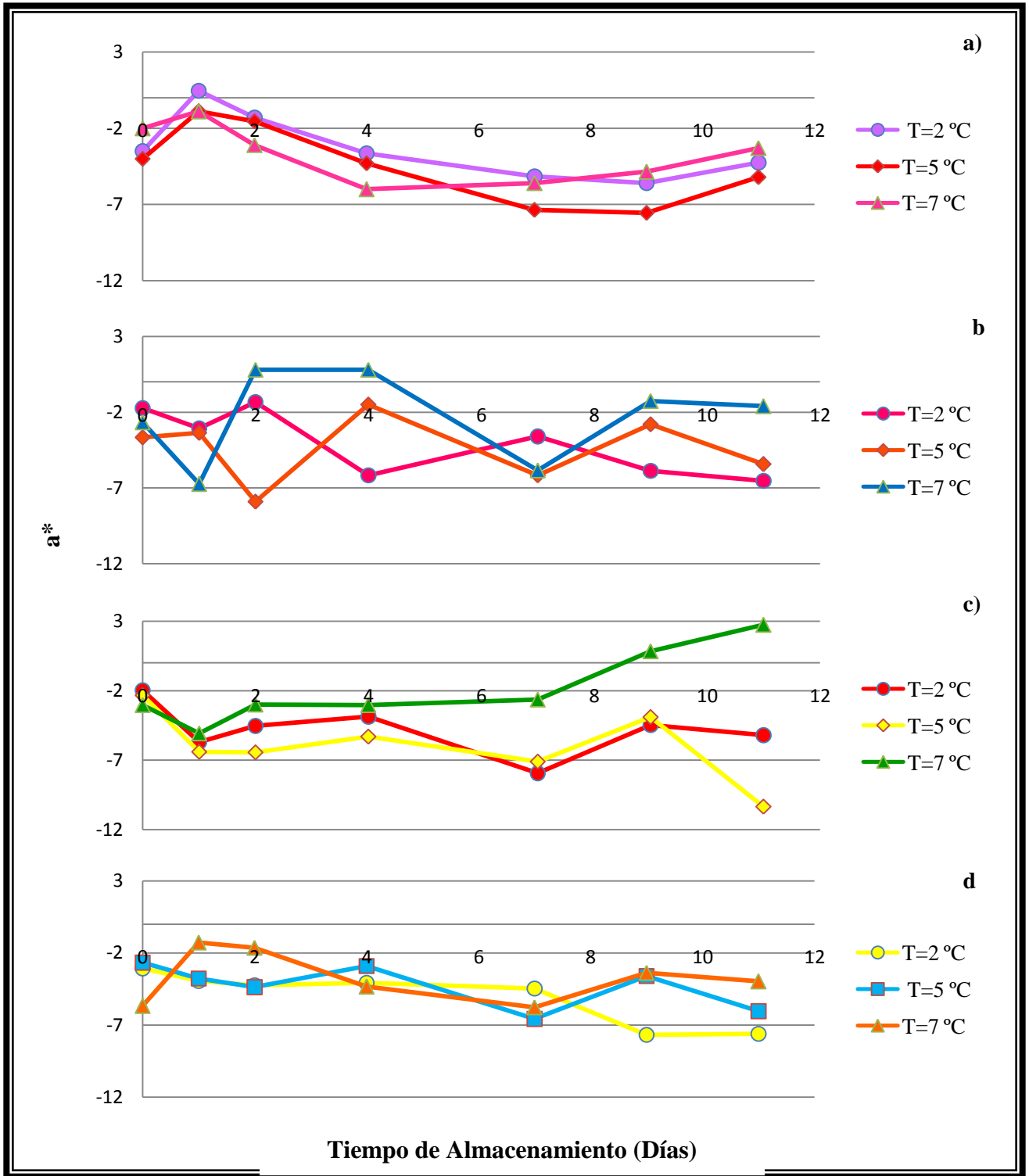


Figura 22. Cambio del parámetro a* en germen de alfalfa durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

En la aplicación de los tratamientos en el germen de alfalfa no hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$), en cuanto al cambio de coloración pero si se observaba a simple vista, lo cual pudiera ser un producto no aceptado por el consumidor. Sin embargo en la temperatura de almacenamiento del germen si hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$), ya que la temperatura en donde se observaron mayores cambios es la de 7 °C, obteniendo valores de a^* de -4 a 2. Tal es el caso de las muestras envasadas solo con atmósferas modificadas las cuales en el día 11 de almacenamiento tenían un valor de $a^* = 2$, lo cual nos indica que hasta en este día las muestras perdieron su coloración verde en comparación con las muestras iniciales. En el caso de las lechugas, estas se dejaron más tiempo en almacenamiento, lo cual provoco un aumento de valor a^* , teniendo valores desde -9.6 a 3 ± 0.4 (Del Nobile y col., 2006).

Las muestras que mantienen el valor de a^* durante el almacenamiento, son las muestras de atmósferas modificadas (Figura 22c), manteniendo un valor de -6 a -4 durante 9 días de almacenamiento, en comparación con las otras muestras que se oscurecieron a partir del día 7. Tano y col. (2007) reportaron que en la conservación de brocoli en atmósferas modificadas, el cambio del valor de a^* solo fue de un 2.9 % (-7.7 a -4.8) al incrementar la temperatura de 3 °C a 13 °C, resultados que son similares en las muestras de atmósferas modificadas almacenadas de 2-5 °C, en las cual se tiene como resultado un cambio del 3.5 % en el valor de a^* .

La Figura 23 muestra la variación de los valores de b^* durante el almacenamiento, este parámetro nos indica el cambio de color de amarillo (+) a azul (-). Como se observa los valores b^* son positivos a pesar del tratamiento aplicado al germen de alfalfa. Los valores de b^* aumentaron en el primer día de almacenamiento. Entre la aplicación del tratamiento y la temperatura no hubo diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($p \geq 0.05$).

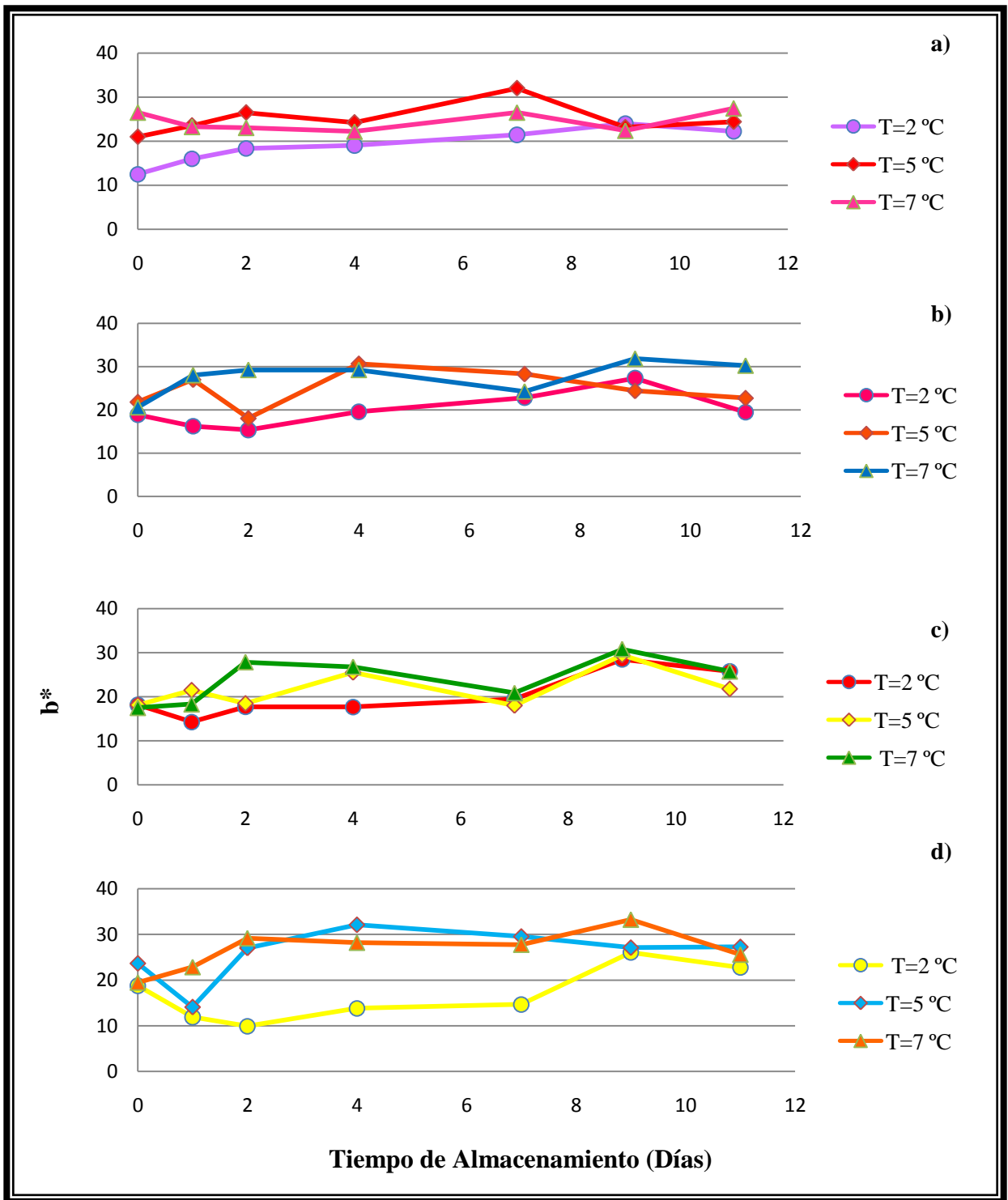


Figura 23. Cambio del parámetro b^* en germe de alfalfa durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

Sin embargo las muestras que tuvieron mayor valor de b^* , fueron las muestras en donde se aplicó etileno, es decir, las muestras solo con etileno (Figura 23b) y las muestras de atmósferas modificadas más etileno (Figura 23d), teniendo valores de b^* de 20-30 y de 24-28 respectivamente en el día 9 de almacenamiento. Esto se debe a que la aplicación de etileno estimuló la pérdida de clorofila en el germen de alfalfa y como consecuencia empezó la aparición de colores amarillos en la radícula; este caso se vio más evidente en las muestras almacenadas a 7 °C, ya que a esta temperatura se aceleró la acción del etileno y para el día 11 de almacenamiento los valores de b^* disminuyeron en un 10 % presentando oscurecimiento, aparición de viscosidad y malos olores por lo cual las muestras eran inservibles.

3.5 pH

El germen de alfalfa al inicio de la experimentación tiene un pH cercano a la neutralidad (5.98- 6.0), generalmente los germinados son de naturaleza alcalina (Singh y col., 2012). En la Figura 24 se muestran los cambios de pH durante el tiempo de almacenamiento. Las muestras almacenadas a 2 °C presentan un pH menor en comparación con las otras temperaturas de almacenamiento ($p \leq 0.05$), estas muestras presentan un cambio de pH 0.1-0.3% en el día 11 de almacenamiento siendo más notable el cambio en las muestras de etileno con atmósferas modificadas (Figura 24d).

En cuanto al tratamiento aplicado al germen, las muestras que presentan menor valor de pH son las de etileno (Figura 24b) y las de atmósferas modificadas (Figura 24c). Por otro lado las muestras que tuvieron aumentos de pH hasta valores de 8.0 fueron las muestras almacenadas a 7 °C en especial las muestras de atmósferas modificadas más etileno; estas muestras al tener mayor velocidad de transpiración aumentaban la humedad en el espacio libre de cabeza propiciando un ambiente húmedo para el crecimiento de microorganismos como las bacterias.

Lee y Jin, (2007) reportaron datos de pH de germinados de frijol mungo, el cual fue tratado con una solución sanitizante (ClO_2) y envasado en diferentes atmósferas modificadas, en donde obtuvieron valores de pH de 5.8 a 6.3 en todos sus tratamientos

($p \geq 0.05$). Resultados similares se obtuvieron en la experimentación a excepción de las muestras almacenadas a 7 °C.

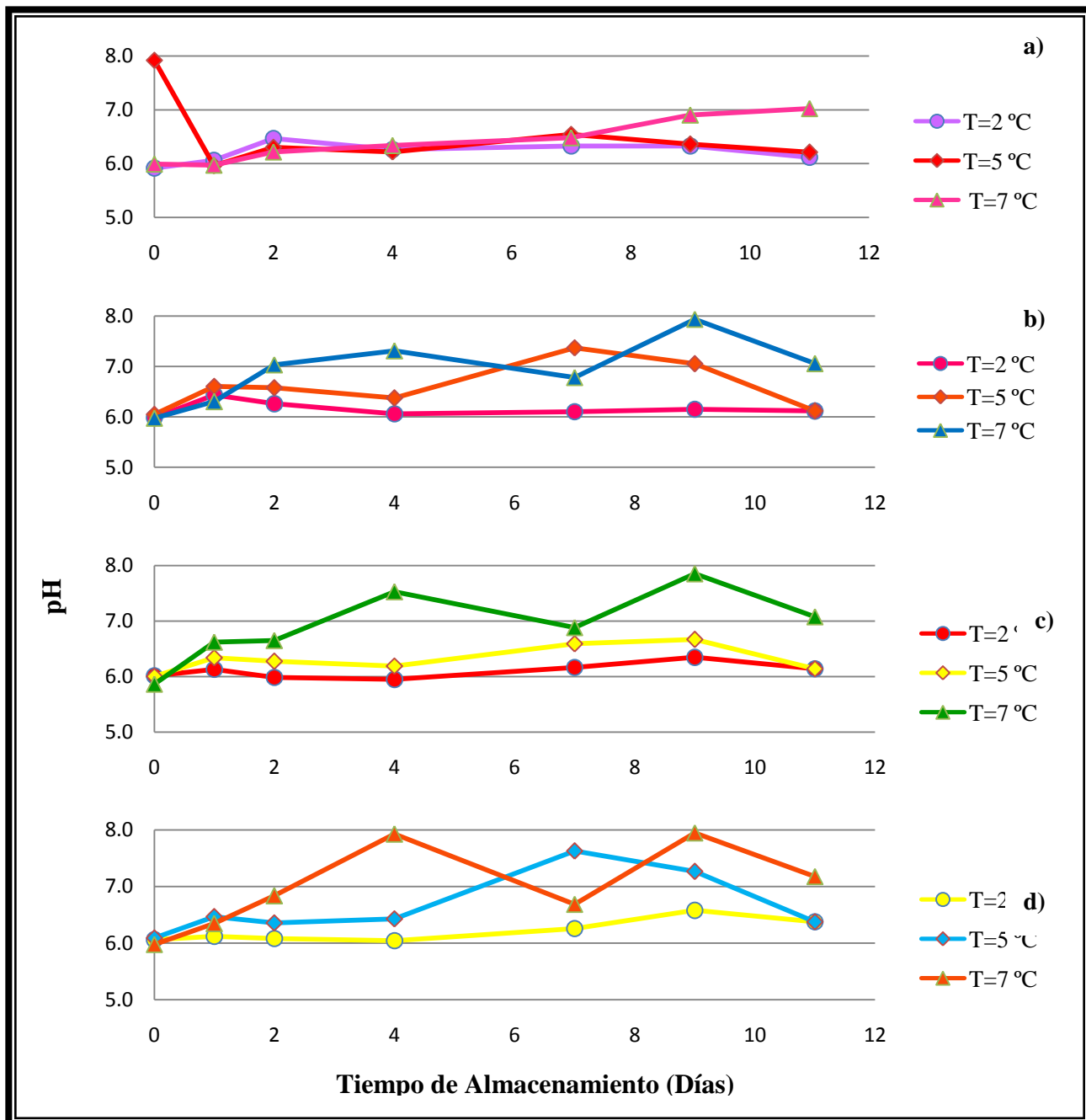


Figura 24. Cambio de pH durante el tiempo de almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmosferas modificadas y d) Atmosferas modificadas más etileno.

En otro estudio realizado en brotes de frijol mungo envasados en atmósferas modificadas reportaron que los valores de pH fueron disminuyendo conforme pasaba el tiempo de almacenamiento; durante 5 días se mantuvo un pH=5.5 y después decreció a 5.2 con las películas de alta permeabilidad y a 4.2 con las películas de baja permeabilidad, estos resultados se le atribuyen al desarrollo de bacterias de ácido-lácticas, debido a la alta acumulación de lactato y en menor cantidad de etanol (Varoquaux y col., 1996).

De la misma manera Singh y col. (2012) reportan la disminución de pH de los brotes de garbanzo almacenados en atmósferas modificadas. En este caso obtuvieron valores de pH mayores en películas de LDPE de 7.85, 6.99 y 5.88, mientras en películas de polipropileno obtuvieron valores de 8.65, 8.55 y 8.27 para 100, 150 y 200 gramos de producto respectivamente. Observando la Figura 24 los valores obtenidos en la experimentación son similares, al igual que en el artículo se usaron envases de polipropileno pero la masa y el producto fueron diferentes; ya que para la masa menor de los brotes de garbanzo (100 g) se obtuvo valores de pH más altos, por lo tanto al aumentar la masa del producto, la composición gaseosa dentro del empaque causa acumulación de lactato disminuyendo así los valores de pH.

3.6 Índice de decaimiento

La Figura 25 muestra la pérdida de apariencia del germen de alfalfa a través del almacenamiento. Se observa que las características del germen de alfalfa van disminuyendo a través del tiempo, desde el primer día de almacenamiento las muestras pierden el 1.5 % de sus características. Las muestras que presentan mayores pérdidas son aquellas almacenadas a 7 °C, siendo las más representativas las muestras de etileno más atmósferas modificadas con un valor final de 2 (Figura 25d), considerándose como inaceptables en el día 11 de almacenamiento. Varoquaux y col. (1996) reportaron los resultados de la observación visual de brotes de frijol envasado en atmósferas modificadas, en donde las muestras envasadas en películas de $P + 200\ 000\ \text{cm}^2/\text{día} \cdot \text{atm}$ presentaron color marrón y presencia de abundantes exudados y las muestras fueron rechazadas a los 2 días de almacenamiento mientras que en las películas de $P + 100\ 000\ \text{cm}^2/\text{día} \cdot \text{atm}$ fueron

rechazadas al día 4, las demás películas de más baja permeabilidad fueron rechazadas hasta el día 6 de almacenamiento.

Las muestras almacenadas a 2 °C fueron las que tuvieron los valores más altos en comparación con las otras muestras. Las muestras control y las de atmósferas modificadas tuvieron un valor final de 6, mientras que las muestras restantes (E y AME) tuvieron un valor final de 4.8, considerados ambos valores como aceptables. En el caso de enfriamiento al vacío de germinados de frijol mungo DeEll y col. (2000), reportaron que después de 4 días de almacenamiento la frescura de los germinados era buena en comparación de los germinados refrigerados.

La aplicación de los diferentes tratamientos al germen de alfalfa no tuvo diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Lo que afecta más en la apariencia del germen es la temperatura ($p \leq 0.05$), ya que esta es la que acelera o disminuye la acción de etileno en las muestras; las muestras con aplicación de etileno al término del almacenamiento son inaceptables para el consumidor. Mientras las que se almacenan a 2 °C y con aplicación de atmósferas modificadas se mantienen aceptables para ser comercializadas.

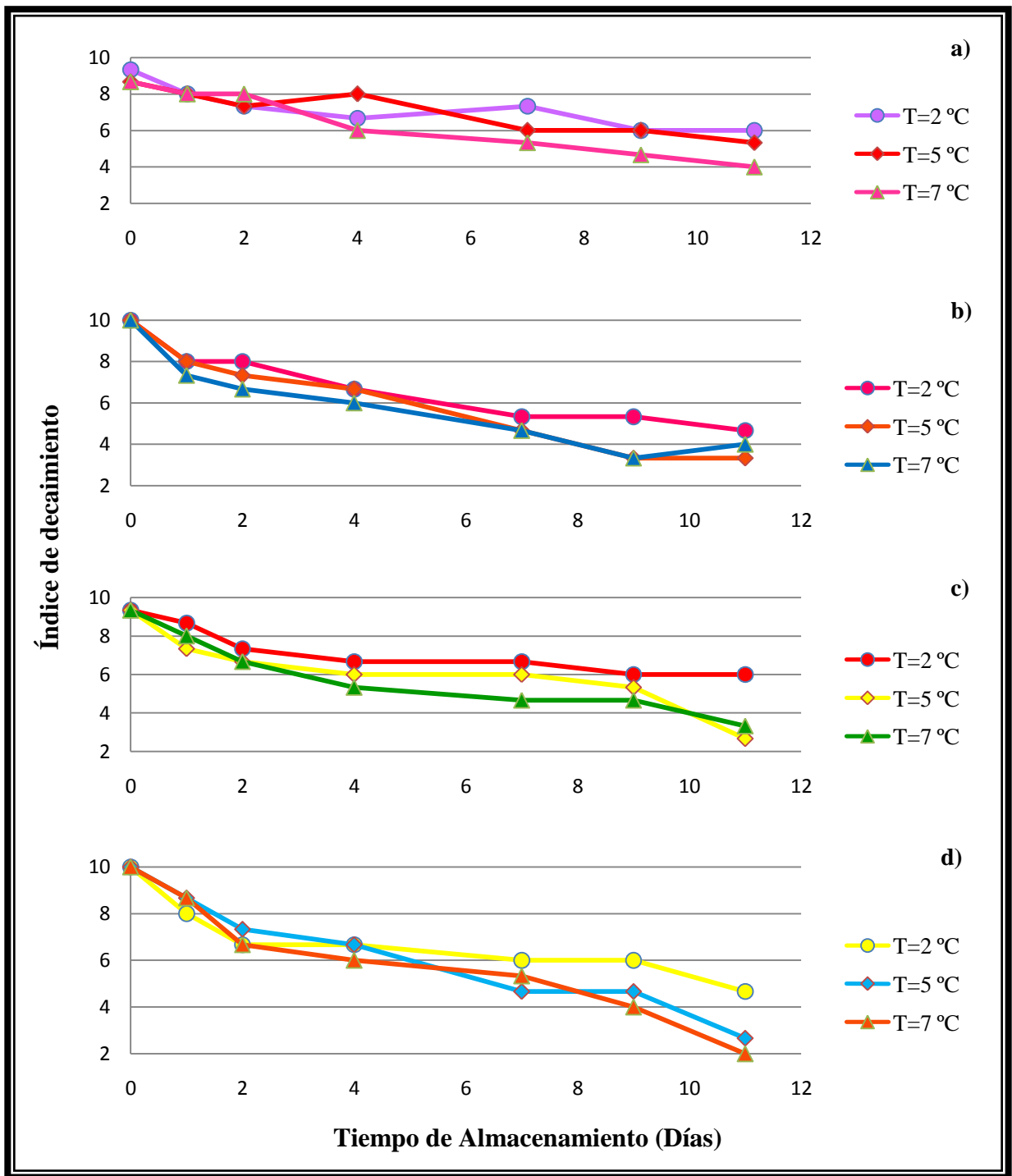


Figura 25. Índice de decaimiento del germen de alfalfa durante el almacenamiento. a) Control (sin ningún tratamiento), b) Etileno, c) Atmósferas modificadas y d) Atmósferas modificadas más etileno.

3.7 Modelo cinético de transpiración

En la Tabla 9 se muestran los resultados de la cinética de transpiración del germen de alfalfa. Los datos experimentales de la velocidad de transpiración se analizaron con las ecuaciones de cinéticas de orden cero y primer orden (ecuaciones 6 y 8). Los resultados obtenidos se ajustan a la cinética de primer orden, de acuerdo con el valor R^2 obtenido de la regresión lineal (Figura 26).

Tabla 9. Ajuste cinético de primer orden de la velocidad de transpiración.

Tratamiento	$\ln(TR_{ref})$	E_a (kJ mol^{-1})	R^2
Etileno	59.82	137.02	0.701
Atmósferas modificadas	29.58	66	0.901
Atmósferas modificadas más etileno	59.32	64.54	0.218

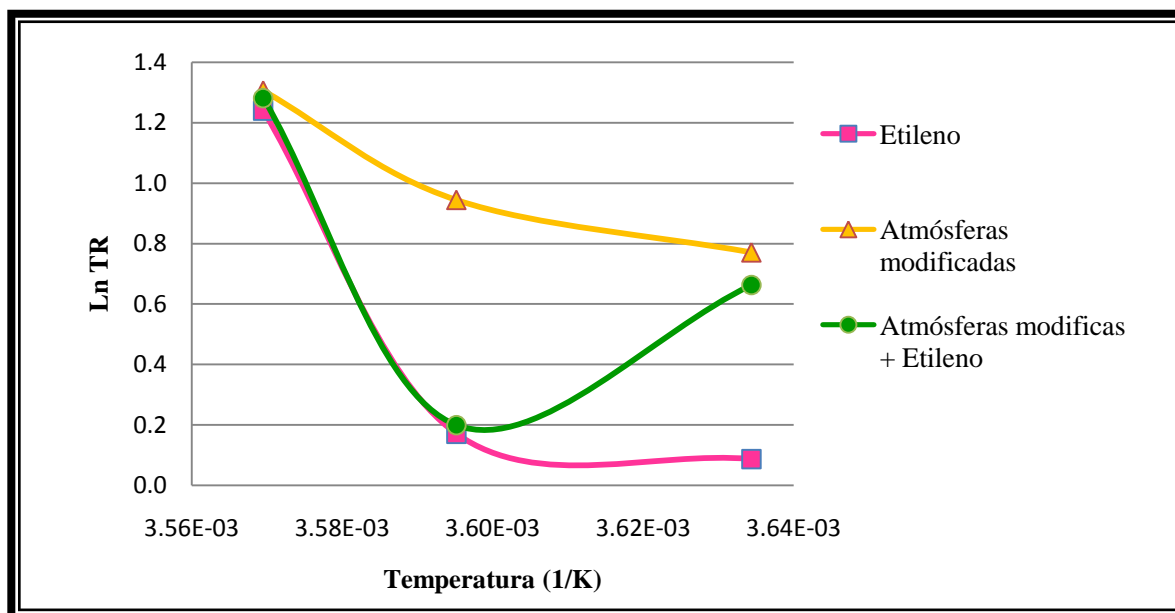


Figura 26. Ecuación de Arrhenius de la velocidad de Transpiración de germen de alfalfa

Uchino y col. (2004) reportaron la energía de activación de diferentes productos en función de la velocidad de respiración, la cual fue evaluada a seis diferentes temperaturas, obteniendo los siguientes resultados: 19.3 kJ/ mol (berenjena), 17.8 a 23 kJ/ mol (espárragos) y 25.7 kJ/ mol (Brocoli). Nei y col. (2005) obtuvieron energías de activación bajas de productos expuestos a altas temperaturas para disminuir la velocidad de respiración, obteniendo como resultados: 0.526 kJ/mol (espárragos), 0.375 kJ/mol (brocoli) y 0.212 kJ/ mol (fresas).

La relación de $\ln (TR)$ y T^{-1} para los datos experimentales no fue completamente lineal. Los resultados obtenidos en la experimentación son mayores a los obtenidos en los trabajos anteriormente mencionados. La energía de activación es mayor en las muestras de etileno, puesto que estas muestras estaban envasadas en atmósferas pasivas, mientras que las muestras de atmósferas modificadas más etileno fueron las de menor energía de activación que de manera paralela con las demás pruebas de la experimentación fueron las muestras que tuvieron más cambios en cuanto su calidad durante el período de almacenamiento.

Guevara y col. (2006) obtuvieron energías de activación relativamente altas en el nopal "Pera" espinoso, en donde los valores de energía de activación fueron mayores a una humedad relativa de 65 % (131 kJ/ mol), mientras que a una humedad relativa del 90 % se obtuvo un valor de 118 kJ/ mol; el promedio de E_a fue de 120 kJ/ mol. Estos resultados son mayores en comparación con las publicaciones de Cameron y col. (1995), el cual obtuvo energías de activación de 95, 55, 60 y 60 kJ/ mol para brocoli, lechuga, arándano y fresa respectivamente.

La aplicación del tratamiento en el germen de alfalfa donde se obtuvo mejores resultados fue en la aplicación solo con etileno y atmósferas modificadas; estas muestras fueron en donde se obtuvieron un factor de correlación (R^2) cercano a la unidad. Mientras que las muestras de etileno más atmósferas modificadas no muestran una correlación en comparación con los otros tratamientos, ya que a la temperatura de almacenamiento de 7 °C muestra una desviación.

Como se sabe no todos los alimentos reaccionan y se comportan de la misma manera debido a que son sistemas multicomponentes. Como se observa en la Tabla 9, las muestras

envasadas de forma activa (atmósferas modificadas y atmósferas modificadas mas etileno) son las que tienen menor energía de activación, debido a que estas encuentran más rapido su estado de equilibrio y comienzan a transpirar, mientras que las muestras solo con etileno (envasadas en forma pasiva) se obtienen energias de activación mayores.

Los modelos obtenidos para las muestras con aplicación de etileno y de atmósferas modificadas pueden ser aplicados para determinar la velocidad de transpiración del germen de alfalfa en cualquier otra condicion de temperatura, ya que en estos fueron en donde se obtuvieron los mejores resultados. En cuanto a los resultados obtenidos para las muestras con aplicación de atmósferas modificadas más etileno pueden ser utilizados pero con un margen de error mayor.

CONCLUSIONES

La velocidad de transpiración tiene un efecto directo con la temperatura. En las muestras almacenadas a 7 °C, al término del almacenamiento disminuyó la transpiración aproximadamente un 60 % observándose inservibles para el caso de las muestras de etileno y atmósferas modificadas más etileno. Mientras que para el almacenamiento a 2 °C solo se disminuyó la transpiración un 30-35 % al término del almacenamiento.

La aplicación de etileno y en combinación con atmósferas modificadas aceleró la transpiración del germen de alfalfa obteniéndose velocidades bajas de 2-2.3 g/ Kg h al final del almacenamiento.

Las muestras que presentaron menor firmeza al término del almacenamiento fueron las de etileno y atmósferas modificadas más etileno obteniéndose resultados de 53-60 N y 50-55 N respectivamente. Las muestras solo con aplicación de atmósferas modificadas no tuvieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) durante el almacenamiento especialmente las muestras que se almacenaron a 2 °C.

Las muestras de germen envasadas en atmósferas modificadas y almacenadas a 2 °C tuvieron un cambio total de color del 9 % al final del almacenamiento en comparación con el germen fresco. Las muestras de etileno y atmósferas modificadas más etileno tuvieron un cambio total de color del 16.33 y 17 % respectivamente.

No hubo diferencias significativas en el germen envasado en atmósferas modificadas durante el período de almacenamiento en comparación con el germen fresco. Las muestras que mantuvieron las mejores características fueron las almacenadas a 2 °C, puesto que en el

último día de almacenamiento (día 11), las muestras se observaban con buen color y tenían aún una textura “crujiente”.

La temperatura de almacenamiento de 7 °C no es óptima para las muestras con aplicación de etileno, a esta condición se aceleran los procesos metabólicos, como la transpiración. El aumento de la velocidad de transpiración tiene como consecuencia una mayor pérdida de agua del producto, viéndose esto reflejado en el espacio libre de cabeza del envase, donde hubo formación de condensados provocando que el germen se humedeciera y perdiera la textura y color característicos rápidamente (día 4).

La combinación de etileno y atmósferas modificadas en el germen de alfalfa no es recomendable, ya que independientemente de la temperatura de almacenamiento, fueron las muestras que presentaron mayores cambios en cuanto color, textura e índice de decaimiento.

Las mejores condiciones para la conservación y el aumento de la vida útil del germen de alfalfa fueron: la aplicación de atmósferas modificadas y una temperatura de almacenamiento de 2 °C. El germen con pre-tratamiento de etileno y almacenado a 2 °C mantiene sus características solo los primeros 4 días de almacenamiento.

El valor de pH no varió significativamente durante el almacenamiento, las muestras almacenadas a 2 °C presentaron un cambio de pH del 0.1-0.3% al final del almacenamiento, mientras que a 7 °C fue de 1-1.5%.

Las muestras que presentaron mayor índice de decaimiento fueron aquellas almacenadas a 7 °C, siendo las más representativas las muestras de etileno más atmósferas modificadas con un valor final de 2, considerándose como inaceptables.

La velocidad de transpiración se ajusta a una cinética de primer orden. El desarrollo de un modelo cinético de transpiración ayuda a conocer el comportamiento del germen de alfalfa frente a la aplicación de atmósferas modificadas y diferentes concentraciones de etileno a una determinada temperatura de almacenamiento.

Los resultados obtenidos por el modelo de transpiración se ajustan mejor para las muestras con aplicación de etileno y atmósferas modificadas, siendo este último el que

mejor se correlaciona de acuerdo a la experimentación realizada. Además que en forma paralela con las demás pruebas realizadas, fueron donde se obtuvieron mejores resultados.

La aplicación de atmósferas modificadas en conjunto con la refrigeración ayuda a aumentar la vida útil de germen de alfalfa, siempre y cuando se mantenga las condiciones de temperatura y humedad relativa adecuadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Artés Calero, F. (2006). El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(2), 61-85.
- Becker, B., Misra, A., & Fricke, B. (1996). *A numerical model of moisture loss and heat loads in refrigerated storage of fruits and vegetables*. Johannesburg.
- Briones, V., & Aguilera, J. (2005). Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International*, 87-94.
- Cameron, A., Talasila, P., & Joles, D. (1995). Predicting the film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *Horticultural Science*, 30, 25-34.
- Cheema, M., Rees, D., Colgan, R., Taylor, M., & Westby, A. (2013). The effects of ethylene, 1-MCP and AVG on sprouting in sweetpotato roots. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 89-93.
- DeEll, J. R., Vigneault, C., Favre, F., Rennie, T. J., & Khanizadeh, S. (2000). Vacuum Cooling and Storage Temperature Influence the Quality of Stored Mung Bean Sprouts. *Horticultural Science*, 35(5), 891-893.
- Del Nobile, M., Baiano, A., Benedetto, A., & Massignan, L. (2006). Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. *Journal of Food Engineering*, 74, 60-69.

- Fonseca, S., Oliveira, F., & Brecht, J. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*(52), 99-119.
- Fordham, J., Wells, C., & Chen, L. (1975). Sprouting of seeds and nutrient composition of seeds and sprouts. *Journal Food Science*(40), 552-556.
- Gonzalez, A. (2008). *Morfología de plantas vasculares*. Recuperado el 2 de Octubre de 2013, de Botánica Morfológica: [http:// www.biologia.edu.ar/botanica](http://www.biologia.edu.ar/botanica)
- Goyal, A., & Siddiqui, S. (2012). Effect of ultraviolet irradiation, pulsed electric field, hot water dip and ethanol vapors treatment on keeping and sensory quality of mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczet) sprouts. *Food Sciencs Technology*, 98-104.
- Guevara, J. C., Yahia, E. M., Beaudry, R. M., & Cedeño, L. (2006). Modeling the influence of temperature and relative humidity on respiration rate of prickly pear cactus cladodes. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 260-265.
- Huang, W.-N., Liu, H.-K., Zhang, H.-H., Chen, Z., Guo, Y.-D., & Kang, Y.-F. (2013). Ethylene-induced changes in lignification and cell wall-degrading enzymes in the roots of mungbean (*Vigna radiata*) sprouts. *Plant Physiology and Biochemistry*(73), 412-419.
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinosteroides, Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico. En *Fisiología Vegetal* (págs. 1-28). Chile : Ediciones Universidad de La Serena.
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2011). *Food and beverage stability and shelf life*. U.K.: Woodhead Publishing Limited .
- Klutznig, K., C. Sutte, J., & G. Campbell, L. (2010). Ethylene production and ethylene effects on respiration rate of postharvest sugarbeet roots. *Postharvest Biology and Technology*(56), 71-76.

- Lee, Y. S., & Jin, H. (2007). Combined Effect of Aqueous Chlorine Dioxide and Modified Atmosphere Packaging on Inhibiting Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes in Mungbean Sprouts. *Food Microbiology and Safety*, 441-445.
- Leonardi, C., Baille, A., & Guichard, S. (2000). Predicting transpiration of shaded and non-shaded tomato fruits under greenhouse environments. *Scientia Horticulturae*, 84, 297-307.
- M. Yahos, E. (2009). *Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation and packaging of horticultural commodities*. United States of American: CRC Press.
- Mahajan, P., Oliveira, F., & Macedo, I. (2008). Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *Journal of Food Engineering*(84), 281-288.
- Mathlouti, M. (1994). *Food Packaging and Preservation*. London: Blackie Academic & Professional.
- Nei, D., Uchin, T., Sakai, N., & Tanaka, S.-i. (2005). Effect of high temperature on the apparent activation energy of respiration of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 37, 277-285.
- ODECOPACK. (2006). *Atmósferas modificadas en Colombia*. Recuperado el 11 de Septiembre de 2013, de <http://atmosferamodificada.blogspot.mx>
- Osorio Cordoba, J., Pelayo Zaldivar, C., Verde Calvo, J., Ponce Valadez, M., Díaz de León Sánchez, F., Bosquez Molina, E., & Rodríguez Hueso, M. (2011). Conservación de nopal verdura "Milpa Alta"(Opuntia ficus indica Mill) despinado en envases con Atmósfera Modificada. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10, 93-104.
- Ospina, S., & Cartagena, J. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 5(2), 112-123.
- Parry, R. (1993). *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food*. London: Blackie Academic & Professional.

- Peñas, E., Gómez, R., Frías, J., & Vidal-Valverde, C. (2009). effects of combined treatments of high pressure, temperature and antimicrobial products on germination of mung bean seeds and microbial quality of sprouts. *Food Control*(21), 82-88.
- Peppelenbos, H., & Leven, J. (1996). Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 27-40.
- Price, T. (1988). Seed Sprout Production for Human Consumption - A Review. *Food Science Technology Journal* , 57-65.
- Ratti, C., Raghavan, G., & Garikpy, Y. (1996). Respiration Rate Model and Modified Atmosphere Packaging of Fresh Cauliflower. *Journal of Food Engineering*, 28, 297-306.
- Rodriguez Aguilera, R., & Oliveira, J. (2009). Review of design Engineering Methods and applications of Active and Modified Atmosphere Packaging Systems. *Food Engineering*(1), 66-83.
- Romajaro, F. (1996). *Nuevas Tecnologías de conservación de frutas y hortalizas: Atmosferas Modificadas*. España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Rost, Barbour, Stocking, & Murphy. (1998). *Plant Biology*. Wadsworth Publishing Company.
- Saltveit, M. (1999). Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 279-292.
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *Food Science and Technology*(43), 381-392.
- Singh, R., Kumar, A., & Jarnail, S. (2012). Quality attributes of fresh Chickpea (*Cicer Arietinum*) Sprouts stored under modified atmospheric packages . *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-11.

- Slade, W. O., Ray, W. K., Williams, P. M., Winkel, B. S., & Helm, R. F. (2010). Effect of exogenous auxin and ethylene on the Arabidopsis root proteome. *Phytochemistry*(84), 18-23.
- Suslow, T., & Cantwell, M. (2013). *Postharvest Technolog. Maintaining Produce Quality & Safety*. Recuperado el 5 de Febrero de 2014, de Agriculture and Natural Resources, University of California: <http://postharvest.ucdavis.edu>
- Tano, K., Oulé, M. K., Doyon, G., Lencki, R. W., & Arul, J. (2007). Comparative evaluation of the effect of storage temperature fluctuation on modified atmosphere packages of selected fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 46, 212-221.
- Uchino, T., Nei, D., Hu, W., & Sorour, H. (2004). Development of a mathematical model for dependence of respiration rate of fresh produce on temperature and time. *Postharvest Biology and Technology*, 34, 285-293.
- Van Boekel, M. A. (2009). *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*. U.S.A.: CRC Press .
- Varoquaux, P., Albagnac, G., & Christophe, N. (1996). Modified Atmosphere Packaging of fresh Beansprouts. *Journal Science Agricultural*(70), 224-230.