



OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA DE LA LECHUGA ICEBERG

Memoria presentada por el Licenciado Juan Antonio
Martínez López para aspirar al grado de Doctor

Fdo. Juan Antonio Martínez López

VºBº Director de Tesis

Murcia, Noviembre 2010



D^a. María Emilia Candela Castillo, Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal y Director del Departamento de Biología Vegetal, INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA DE LA LECHUGA ICEBERG“, ha sido realizada por D. Juan Antonio Martínez López, bajo la inmediata dirección y supervisión de D. Francisco Artés Calero, y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Murcia, a 2 de noviembre de 2010.





D^a María Ángeles Pedreño García, Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal perteneciente al Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Murcia, RATIFICA como tutora del doctorando D. Juan Antonio Martínez López:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA DE LA LECHUGA ICEBERG”, realizada en el Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, bajo la dirección de D. Francisco Artés Calero y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 2 de noviembre de 2010



Universidad
Politécnica
de Cartagena

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA
Dpto. Ingeniería de Alimentos y Eqpto. Agrícola
Grupo Postrecolección y Refrigeración
Prof. Dr. Francisco Artés Calero

Pº Alfonso XIII, 48. E-30203 Cartagena. Murcia.

Tel. 968 325510 Fax. 968 325433

fr.artes@upct.es

www.upct.es/gpostref/



Grupo de Postrecolección y Refrigeración
Universidad Politécnica de Cartagena

Francisco Artés Calero, Catedrático de Universidad del Área de Tecnología de los Alimentos en el Departamento de Ingeniería de los Alimentos y del Equipamiento Agrícola de la Universidad Politécnica de Cartagena,

AUTORIZA

La presentación de la Tesis Doctoral “OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA DE LA LECHUGA ICEBERG”, realizada por D. Juan Antonio Martínez López bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Cartagena, Murcia, a 2 noviembre de 2010

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA
DPTO. DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS Y DEL EQUIPAMIENTO AGRÍCOLA
Fechas Attend 08/10

A la memoria de mis padres

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres, que en paz descansen, por la insuperable ayuda espiritual y material que me blindaron desde el comienzo de mis estudios y por la grandísima confianza que siempre depositaron en mí, como persona y como científico. Su respeto, ilusión y confianza en mis posibilidades ha sido el impulso necesario que ha hecho de la ciencia la dedicación profesional de mi vida. Este trabajo, sin duda alguna, es para ellos.
- A mi director Dr. Francisco Artés Calero, por iniciarme en los estudios de poscosecha y blindarme la oportunidad de realizar éste y tantos otros estudios junto con las empresas y cooperativas del Campo de Cartagena, así como por sus continuos consejos y dirección. Le agradezco todo el apoyo y facilidades que me ha dado para la realización de este trabajo y lograr mis retos profesionales que, de otra forma, no hubiese alcanzado. Su ambición, entusiasmo y entrega al trabajo los he considerado siempre como virtudes modélicas a seguir para desarrollarme en el ámbito profesional y humano.
- A mi tutora de doctorado, Dra. María Ángeles Pedreño, del Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Murcia, le agradezco sinceramente todo el apoyo que me ha proporcionado durante mis estudios de doctorado y su inestimable ayuda durante todo el proceso relacionado con la presentación de este trabajo.
- Al INFO - Instituto de Fomento de la Región de Murcia, por la concesión de mi beca predoctoral de investigación aplicada desde octubre de 1993 hasta octubre de 1997.
- A las empresas Agrícola Mar Menor, S.L., Kernel Export, S.L., a la Sociedad Agraria de Transformación San Cayetano y a Gregal Sociedad Cooperativa de Murcia por financiar este estudio y mis contratos durante los años 1992 y 1993 y posteriormente durante los años 1998 y 1999. Además les agradezco la disposición de sus instalaciones y el suministro del material vegetal. Doy las gracias especialmente a sus gerentes y directores: D. José Antonio Cánovas de Agrícola Mar Menor y Kernel Export, D. Antonio Ruiz, D. Guido y D. Vicente Rosique de Gregal Soc. Coop. y a D. Vicente Sicilia de la S.A.T. San Cayetano. A todos ellos por haberme dado con sus charlas y consejos una visión fundamental de la problemática de la comercialización de la lechuga Iceberg del Campo de Cartagena, su exportación y exigencias de mercado exterior. También les agradezco su confianza y apoyo durante más de 8 años en el Grupo de Investigación de Postrecolección del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC), que dirigió el Dr. Francisco Artés, para la realización de los estudios de conservación de la lechuga Iceberg.
- A las empresas Borden España, S.A. por el suministro de las muestras de plástico de PVC; Filmwrap Plastic, S.A.L. por el LDPE; Derprosa (fabricante de polipropileno biorientado a REPSOL) por el BOPP; Plásticos del Segura, S.L., y especialmente a su gerente, D. Rafael Cuquerella, por sus enriquecedoras charlas y por el suministro de PPP (CPP) y SPP, así como por ofrecernos las fichas técnicas de los materiales plásticos que utilizamos. A Derprosa también le agradezco el ofrecimiento de los datos de permeabilidades de su polipropileno biorientado.

- A Abelló-Linde, S.A., por el suministro desinteresado de gases para el desarrollo de las experiencias.
- Al CEBAS-CSIC de Murcia agradezco el ofrecimiento de sus instalaciones y material experimental.
- A la empresa Hijos de Juan Pujante S.A. y especialmente a D. Pascual, por ofrecer en todo momento y de forma desinteresada un camión frigorífico para el transporte de las lechugas desde la cooperativa a la Planta Piloto del CEBAS.
- A D. José Ginés Marín del CEBAS agradezco su asistencia técnica, inestimable amistad, sus sabios comentarios y consejos siempre constructivos, que me hicieron crecer en el campo humano y profesional.
- A D^a. Mercedes Almagro del CEBAS, su ayuda en la realización de los análisis y su optimismo diario, necesario para abordar el trabajo con entusiasmo.
- A los doctores Rob Evelo y Herman Peppelenbos de Agricultural & Food Innovations (Wageningen-Holanda), por iniciarme en la medida de la permeabilidad de los materiales plásticos y en la medida de la respiración de productos vegetales en AC respectivamente.
- A Lorena Almagro Romero, del Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Murcia, por la realización del diseño de la portada.
- A todos aquellos que con sus preguntas y planteamientos de problemas científicos me han ayudado y estimulado para avanzar en mi conocimiento y enriquecimiento personal. Sin duda, esto ha sido la esencia de mi trabajo. En especial a todos los alumnos de Ingeniería Agronómica de La Universidad Politécnica de Cartagena y de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández que han realizado el proyecto fin de carrera en el Laboratorio de Refrigeración y Postrecolección del CEBAS, por sus continuas preguntas e ideas frescas que me mantuvieron continuamente activo y con las inquietudes necesarias para abordar los problemas que todo científico se encuentra en su trabajo diario.
- Finalmente, a todas aquellas personas que no he citado anteriormente y que durante este largo trayecto me han apoyado y animado de una manera u otra para finalizar este trabajo. Especialmente a mi mujer Olga, a mis hijos Paula, Sandra y Juan Antonio y a mis compañeros del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena.

OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA DE LA LECHUGA ICEBERG

RESUMEN. El presente trabajo está justificado por la necesidad real constatada por las empresas hortofrutícolas de mejorar la calidad de la lechuga Iceberg en vistas a su exportación a los países de la Unión Europea y, también, con el propósito de conocer el comportamiento fisiológico de esta hortaliza cultivada en la comarca del Campo de Cartagena de la Región de Murcia (España). La mejora de la calidad hace referencia a conseguir mantenerla desde la cosecha hasta el lugar de consumo, ya que la calidad del producto cosechado suele ser bastante buena. Respecto al comportamiento fisiológico, se ha pretendido conocer el potencial de conservación de la lechuga y el efecto del preenfriamiento y uso de las atmósferas modificadas en el mantenimiento de la calidad. También se han estudiado las alteraciones fisiológicas y microbianas que aparecen en las lechugas del Campo de Cartagena y el efecto de la refrigeración y coadyuvantes durante su almacenamiento. Como un complemento necesario al estudio de la calidad, se han determinado las características de permeación a los gases metabólicos de los envases plásticos destinados a la conservación de los productos vegetales en atmósferas modificadas y el comportamiento respiratorio de la lechuga con el fin de obtener una estrategia de diseño de envase que permita conocer las exigencias de este producto en relación al tipo de envasado que requiere. Los resultados han puesto de manifiesto que la lechuga Iceberg cultivada en el Campo de Cartagena es muy sensible a las alteraciones fisiológicas de nervaduras rosáceas y mancha canela sin mediación del etileno, que constituyen los principales problemas en su exportación. La solución planteada pasa por sustituir el envase actual, polipropileno macroperforado, por polipropileno no perforado, biorientado o de tipo estándar, que han permitido reducir de forma drástica la incidencia de estas dos alteraciones y mantener un mejor aspecto visual incluso tras dos semanas de almacenamiento refrigerado. Si embargo, se debe controlar correctamente la temperatura y mantener la cadena de frío, ya que el envasado de la lechuga en estos polímeros no perforados presenta riesgos de incidencia de otras alteraciones fisiológicas como la mancha parda y el daño del cogollo interior. La reducción de las alteraciones en atmósfera modificada se ha atribuido a los niveles favorables de O₂ (no menos del 10% y no más del 15%) y de CO₂ (entre el 1 y el 4%) y su efecto beneficioso para frenar el metabolismo combinado con la reducción de la temperatura de refrigeración.

Palabras clave: *Lactuca sativa* L. cv. Iceberg, refrigeración, preenfriamiento bajo vacío, envasado en atmósfera modificada, polímeros plásticos, permeabilidad, diseño de envase, actividad respiratoria, etileno, alteraciones fisiológicas, podredumbres.

Número de citas bibliográficas: 313

Número de tablas: 26

Número de figuras: 22

Número de ecuaciones: 32

OPTIMIZATION OF MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING FOR ICEBERG LETTUCE

ABSTRACT. This study was accomplished because of horticultural Spanish companies needed to improve Iceberg lettuce quality to be exported towards the European Community countries and, at the same time, to know the physiological behaviour of this vegetable grown in the Campo de Cartagena area of the Murcia Region (Spain). The quality improvement consists of maintaining the lettuce quality from harvest to consumption, since the lettuce quality was usually quite good at harvest. Regarding to physiological behaviour, in this work it was searched both the lettuce shelf life and the effect of cooling and modified atmosphere packaging on maintaining quality. In the same way, the physiological and microbiological disorders which appeared in the lettuces grown in the Campo de Cartagena and the effect of chilling storage and other techniques were studied. In addition to this quality study, lettuce respiration and metabolic gas permeation throughout polymeric packages for using in modified atmosphere packaging were studied. The data obtained permit to know the film requirements and to design an optimum modified atmosphere packaging for Iceberg lettuce. The results demonstrated that Iceberg lettuce grown in Campo de Cartagena is very sensitive to physiological disorders 'pink rib' and 'russet spotting' this last one without ethylene releasing. These are the main problems when lettuces are exported. Both non-perforated bioriented polypropylene and standard polypropylene were proposed as alternatives to substitute the conventional macroperforated polypropylene. The gas composition reached within packages with these films permitted to reduce drastically the above mentioned disorders and to maintain the overall quality for periods longer than two weeks under chilling. Both temperature and cold chain must be correctly kept so that no risks of either 'brown stain' or 'heart-leaf injury' can appear due to an inadequate use of non-perforated films. The disorders reduction was attributed to levels of O₂ (between 10 to 15%) and CO₂ (between 1 and 4%) within the packages and the favourable effects of those atmospheres combined with the use of chilling storage temperatures on restraining lettuce metabolism.

Key words: *Lactuca sativa* L. cv. Iceberg, cold storage, vacuum cooling, modified atmosphere packaging, polymeric films, permeability, package design, respiration, ethylene production, physiological disorders, decay.

Number of references: 313

Number of tables: 26

Number of figures: 22

Number of equations: 32

LISTADO DE ACRÓNIMOS, SINÓNIMOS Y ABREVIATURAS (por orden alfabético)

- 2,4-D**: ácido 2,4-diclorofenoxiacético.
- AC**: atmósfera controlada (sinónimo de **CA**).
- ACC**: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.
- AIA**: ácido indolacético (sinónimo de **IAA**).
- AM**: atmósfera modificada (sinónimo de **MA**).
- ANOVA**: análisis de la varianza.
- AP**: “*active packaging*”. Envasado activo.
- AR**: actividad respiratoria (sinónimo de **RR**).
- BD**: “*butt discoloration*”. Oxidación del corte del tallo.
- BNS**: “*brown stain*”. Mancha parda.
- BOPP**: “*bioriented polypropylene*” polipropileno biorientado (sinónimo de **PPBO** y de **PPB**).
- BRT**: “*break through times*”. Tiempo necesario para que los primeros 1×10^{-5} g de solvente se evaporen hacia el exterior de la membrana o polímero de 0,75 mm de espesor.
- BSR**: “*bacterial soft rot*”. Podredumbre blanda bacteriana.
- CA**: “*controlled atmosphere*” (sinónimo de **AC**).
- CAP**: “*controlled atmosphere packaging*”. Envasado en atmósfera controlada.
- CAS**: “*controlled atmosphere storage*”. Conservación en atmósfera controlada.
- CAST**: polipropileno cast (sinónimo de **CPP** y de **PPC**).
- CEBAS-CSIC**: Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura - Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- CPP**: “*cast polypropylene*” (sinónimo de **PPC** y de **CAST**).
- CSS**: contenido en sólidos solubles (sinónimo de **SSC**, **SS**, y de **SST**).
- CV**: lechugas sometidas a preenfriamiento bajo vacío.
- D**: coeficiente de difusión.
- DBT**: daños por bajas temperaturas (sinónimo de **DF**).
- DER**: desviación estándar relativa.
- DF**: daños por frío (sinónimo de **DBT**).
- EAM**: envasado en atmósfera modificada (sinónimo de **MAP**).
- EAP**: envasado bajo atmósfera protectora o envasado con generación activa de la atmósfera.
- EB**: “*enzymatic browning*”. Pardeamiento enzimático.
- EEM**: error estándar de la media aritmética.
- FI**: “*freezing injury*”. Daño por congelación.
- FID**: “*flame ionizing detector*”. Detector de ionización de llama.
- GL**: número de grados de libertad de un estadístico.
- HCC**: cámara de alta concentración de gas permeante de las células de permeabilidad.
- HLI**: “*heart leaf injury*”. Daño del cogollo interior o pardeamiento de las hojas internas.
- HR**: humedad relativa.
- H-R**: “*hypersensitivity reaction*”. Reacción de hipersensibilidad.
- IA**: índice de alteraciones.
- IAA**: “*indole acetic acid*” (sinónimo de **AIA**).
- ISO**: método isostático o de flujo continuo de medida de la permeabilidad.
- LAB**: “*lactic acid bacteria*”. Bacterias del ácido láctico.
- LCC**: cámara de baja concentración de permeante de las células de permeabilidad.

LDPE: “*low density polyethylene*”. Polietileno de baja densidad.
LDPE11: polietileno de baja densidad de 11 µm de espesor.
LDPE14: polietileno de baja densidad de 14 µm de espesor.
LDPE20: polietileno de baja densidad de 20 µm de espesor.
LMV: “*Lettuce mosaic virus*”. Virus del mosaico de la lechuga.
LOI: “*low oxygen injury*”. Daños por bajos niveles de oxígeno.
LSD: “*least significant difference*”. Mínima diferencia significativa.
MA: “*modified atmosphere*” (sinónimo de **AM**).
MAP: “*modified atmosphere packaging*” (sinónimo de **EAM**).
MHS: “*modified humidity storage*”. Almacenamiento bajo humedad modificada.
OPP: “*oriented polypropylene*”. Polipropileno orientado.
OPP25: polipropileno orientado de 25 µm de espesor (sinónimo de **PPO25**).
OPP40: polipropileno orientado de 40 µm de espesor (sinónimo de **PPO40**).
P: permeabilidad. También se suele utilizar esta sigla para la permeanza o factor de permeabilidad. La permeabilidad y la permeanza se relacionan con la siguiente expresión: permeabilidad = permeanza x espesor del film. Lo correcto es representar la permeabilidad como \underline{P} y la permeanza como P .
 P , también corresponde a nivel de probabilidad en el análisis estadístico.
PAL: “*phenylalanine ammonia-lyase*”. Fenilalanina amonioliasa.
PCO₂: permeabilidad al CO₂.
PO₂: permeabilidad al O₂.
PE: polietileno.
POD: “*peroxidase*”. Peroxidasa.
PP: polipropileno.
PP activa: envasado en polipropileno en atmósfera modificada generada de forma activa (sinónimo de **PP EAM activa** y de **PP EAP**).
PPB: polipropileno biorientado (sinónimo de **PPBO**).
PPB25: polipropileno biorientado de 25 µm de espesor (sinónimo de **PPBO25**).
PPB40: polipropileno biorientado de 40 µm de espesor (sinónimo de **OPP40** y de **PPBO40**).
PPBO: polipropileno biorientado (sinónimo de **BOPP** y de **PPB**).
PPBO25: polipropileno biorientado de 25 µm de espesor (sinónimo de **PPB25** y **PPBO40**).
PPBO40: polipropileno biorientado de 40µm de espesor (sinónimo de **PPB40**).
PPC: polipropileno cast (sinónimo de **CPP** y de **CAST**).
PP EAM activa: envasado en polipropileno en atmósfera modificada generada de forma activa (sinónimo de **PP activa** y de **PP EAP**).
PP EAM: envasado en polipropileno en atmósfera modificada generada de forma pasiva (sinónimo de **PP pasiva**).
PP EAP: envasado en polipropileno en atmósfera modificada generada de forma activa (sinónimo de **PP activa** y de **PP EAM activa**).
PPO: “*polyphenol-oxidase*”. Polifenol oxidasa.
PPO25: polipropileno orientado de 25 µm de espesor (sinónimo de **OPP25**).
PPO40: polipropileno orientado de 40 µm de espesor (sinónimo de **OPP40**).
PPP: “*perforated polypropylene*”. Polipropileno macroperforado.
PP pasiva: envasado en polipropileno en atmósfera modificada generada de forma pasiva (sinónimo de **PP EAM**).
PPS: polipropileno estándar (sinónimo de **SPP**).
PPS25: polipropileno estándar de 25 µm de espesor (sinónimo de **SPP25**).
PPS30: polipropileno estándar de 30 µm de espesor (sinónimo de **SPP30**).
PPS40: polipropileno estándar de 40 µm de espesor (sinónimo de **SPP40**).

PPS50: polipropileno estándar de 50 μm de espesor (sinónimo de **SPP50**).

PR: “*pink rib*”. Venas o nervaduras rosáceas.

PVC: “*polyvinyl chloride*”. Cloruro de polivinilo, vinilo o policloruro de vinilo.

PVC10: cloruro de polivinilo de 10 μm de espesor.

QISO: método cuasi-isostático de medida de la permeabilidad.

RBD: “*rusty brown discoloration*”. Decoloración parda-herrumbrada.

RD: “*rib discoloration*”. Decoloración de las venas.

RR: “*respiration rate*” (sinónimo de AR).

RS: “*russet spotting*”. Mancha canela.

S: solubilidad.

SAT: Sociedad Agraria de Transformación.

SPP: “*standard polypropylene*” (sinónimo de **PPS**).

SPP25: polipropileno estándar de 25 μm de espesor (sinónimo de **PPS25**).

SPP30: polipropileno estándar de 30 μm de espesor (sinónimo de **PPS30**).

SPP40: polipropileno estándar de 40 μm de espesor (sinónimo de **PPS40**).

SPP50: polipropileno estándar de 50 μm de espesor (sinónimo de **PPS50**).

SS: sólidos solubles (sinónimo de **CSS**, **SSC** y de **SST**).

SSC: “*soluble solids content*”. Contenido en sólidos solubles (sinónimo de **CSS**, de **SST** y de **SS**).

SST: sólidos solubles totales (sinónimo de **SSC**, **CSS** y de **SS**).

SV: lechugas no sometidas a preenfriamiento bajo vacío. Terminología utilizada cuando otras lechugas del mismo experimento han sido preenfriadas.

TB: “*tipburn*”. Necrosis marginal.

TCD: “*thermal conductivity detector*”. Detector de conductividad térmica.

VC: “*vacuum cooling*”. Preenfriamiento bajo vacío.

INDICE GENERAL

1. Justificación del estudio, estado actual de la técnica, innovaciones y publicaciones derivadas	1
1.1. Antecedentes y estado actual del tema.....	3
1.2. Necesidades de investigación.....	4
1.3. Aspectos novedosos del presente trabajo.....	5
1.4. Métodos experimentales y productos desarrollados.....	5
1.5. Publicaciones derivadas de este estudio.....	6
2. Introducción	9
2.1. Objetivos del trabajo.....	11
2.2. Variedades comerciales de lechuga.....	11
2.3. Parámetros biológicos de la lechuga.....	13
2.4. La conservación de los productos hortofrutícolas.....	14
2.5. Aplicación de la refrigeración a la conservación de los productos hortofrutícolas.....	17
2.6. El envasado en atmósfera modificada en la conservación de productos hortofrutícolas.....	19
2.6.1. Definición y características generales.....	19
2.6.2. Métodos de generación de atmósferas modificadas.....	25
2.6.3. Factores que influyen en la atmósfera de equilibrio.....	30
2.6.3.1. Intensidad respiratoria y temperatura.....	30
2.6.3.2. Permeabilidad del polímero y temperatura.....	30
2.6.4. Efectos de la atmósfera modificada sobre la fisiología de los productos hortofrutícolas.....	30
2.6.5. Ventajas de la aplicación de las atmósferas modificadas.....	32
2.6.6. Efectos negativos de las atmósferas modificadas.....	37
2.6.7. Peligros microbiológicos en un sistema EAM.....	38
2.6.8. Futuro de la técnica EAM.....	39
2.7. Calidad de la lechuga y desórdenes que aparecen durante su conservación y comercialización.....	45
2.7.1. Conservación de la lechuga.....	45
2.7.1.1. Almacenamiento convencional.....	45
2.7.1.2. Almacenamiento en atmósfera modificada.....	47
2.7.1.3. Almacenamiento en atmósfera controlada.....	50
2.7.1.4. Almacenamiento en expositores de supermercado.....	50
2.7.2. Parámetros de calidad de la lechuga.....	50
2.7.2.1. Atributos de calidad.....	55
2.7.2.1.1. Calidad visual general.....	55
2.7.2.1.2. Peso.....	55
2.7.2.1.3. Tamaño.....	56
2.7.2.1.4. Forma.....	57
2.7.2.1.5. Presencia de defectos.....	57
2.7.2.1.6. Color.....	58

2.7.2.1.7. Sabor y olor (“ <i>flavor</i> ”).....	59
2.7.2.1.8. Propiedades texturales.....	60
2.7.2.1.9. Calidad microbiológica.....	61
2.7.2.1.10. Valor nutricional.....	62
2.7.2.2. Alteraciones de la lechuga Iceberg durante su almacenamiento.....	63
2.7.2.2.1. Marchitamiento.....	66
2.7.2.2.2. Pardeamiento enzimático.....	68
2.7.2.2.3. Oxidación o pardeamiento del corte del tallo	70
2.7.2.2.4. Mancha canela.....	70
2.7.2.2.5. Venas o nervadura rosácea.....	76
2.7.2.2.6. Mancha parda.....	79
2.7.2.2.7. Daño del cogollo interior.....	82
2.7.2.2.8. Podredumbre blanda bacteriana.....	83
2.7.2.2.9. Daños por bajos niveles de oxígeno.....	88
2.7.2.2.10. Pardeamiento del nervio central.....	89
2.7.2.2.11. Decoloración parda herrumbrada.....	90
2.7.2.2.12. Daños por congelación.....	90
2.7.2.2.13. Necrosis marginal.....	91
2.7.2.2.14. Podredumbres fúngicas.....	91
2.7.2.2.15. Daños por acetaldehído.....	93
2.7.3. Factores que influyen en el potencial de conservación de la lechuga.....	93
2.7.3.1. Efecto del tipo de almacenamiento.....	96
2.7.3.2. Efecto del preenfriamiento.....	97
2.7.3.3. Efecto del tipo de envase plástico.....	100
2.7.3.4. Efecto de la variedad o ciclo.....	100
2.8. Definición del problema.....	101
3. Nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de gases a través de membranas poliméricas. Aplicación a la técnica de envasado de productos hortofrutícolas en atmósfera modificada.....	103
3.1. Introducción.....	105
3.1.1. Los envases plásticos en la comercialización hortofrutícola....	105
3.1.2. Métodos de medida de la permeación.....	108
3.1.3. Determinación de la permeabilidad de polímeros plásticos a los gases respiratorios por el método isostático (ISO) y análisis por cromatografía gaseosa.....	109
3.1.4. Procedimiento.....	112
3.1.4.1. Instrumental y análisis de permeación.....	112
3.1.4.2. Método de incremento de concentración o método isostático. Principales problemas.....	113
3.1.4.3. Nuevo protocolo de las mediciones de permeabilidad	114
3.2. Resultados y discusión.....	119
4. Adecuación de un sistema dinámico de medición de la actividad respiratoria a la lechuga Iceberg.....	125
4.1. Introducción y métodos.....	127

4.1.1. El proceso respiratorio.....	127
4.1.2. Procedimientos para determinar la actividad respiratoria.....	128
4.1.3. Material vegetal y diseño de los experimentos.....	129
4.1.4. Material instrumental utilizado para el desarrollo de las experiencias.....	129
4.1.5. Eventos del cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer Autosystem) para determinar el CO ₂ de la respiración.....	133
4.2. Resultados.....	134
4.3. Discusión.....	135
5. Variación de actividad respiratoria y emisión de etileno de la lechuga mínimamente procesada según el grado de corte.....	137
5.1. Introducción.....	139
5.2. Materiales y métodos.....	140
5.2.1. Material vegetal.....	140
5.2.2. Procesado mínimo.....	141
5.2.3. Determinación de la actividad respiratoria y producción de etileno.....	141
5.2.4. Diseño experimental.....	142
5.3. Resultados y discusión.....	142
5.4. Conclusiones.....	147
6. Influencia del envasado sobre el mantenimiento de la calidad de la lechuga tipo Salinas.....	149
6.1. Introducción.....	151
6.2. Materiales y métodos.....	153
6.2.1. Diseño experimental.....	153
6.2.2. Tratamientos y sistemas de envasado.....	154
6.2.3. Análisis gaseoso.....	154
6.2.4. Sistemas de evaluación de la calidad.....	154
6.2.5. Análisis estadístico.....	154
6.3. Resultados y discusión.....	154
7. Influencia del envasado y del preenfriamiento sobre la calidad de la lechuga Iceberg de invierno.....	161
7.1. Introducción.....	164
7.2. Materiales y métodos.....	164
7.2.1. Diseño experimental y métodos de envasado.....	164
7.2.2. Permeabilidad a los gases.....	166
7.2.3. Evaluación de las alteraciones.....	166
7.2.4. Análisis de gases.....	166
7.2.5. Sistemas de evaluación de la calidad.....	166
7.2.6. Análisis estadístico.....	167
7.3. Resultados y discusión.....	167
7.3.1. Composición gaseosa.....	167
7.3.2. Pérdidas de peso y marchitamiento.....	167
7.3.3. Alteraciones.....	171

7.3.4. Calidad visual global.....	173
7.4. Conclusiones.....	174
8. Mejora de la conservación de la lechuga acogollada mediante envases de polipropileno no perforado.....	177
8.1. Introducción.....	179
8.2. Material y métodos.....	180
8.2.1. Diseño experimental.....	180
8.2.2. Tratamientos y métodos de envasado.....	181
8.2.3. Permeabilidad de los polímeros plásticos.....	181
8.2.4. Análisis de la composición gaseosa.....	181
8.2.5. Sistemas de medida de la calidad.....	181
8.2.6. Análisis estadístico.....	182
8.3. Resultados y discusión.....	182
8.3.1. Caracterización de las cabezas de lechuga.....	182
8.3.2. Modificación de la atmósfera.....	182
8.3.3. Pérdidas de peso, marchitamiento y calidad general.....	183
8.3.4. Incidencia y severidad de alteraciones.....	185
8.4. Conclusiones.....	187
9. Conclusiones.....	191
9.1. Permeabilidad de los polímeros plásticos.....	193
9.2. Actividad respiratoria y emisión de etileno.....	194
9.3. Diseño del envase.....	196
9.4. Lechuga Iceberg ciclo Salinas.....	197
9.5. Lechuga Iceberg ciclo Coolguard.....	199
9.6. Lechuga Iceberg ciclo Astral.....	200
9.7. Conclusiones globales sobre la conservación de la lechuga Iceberg..	201
9.7.1. Pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual.....	201
9.7.2. Alteraciones fisiológicas.....	202
9.7.3. Alteraciones microbianas.....	203
10. Bibliografía.....	205

**1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO, ESTADO ACTUAL DE LA
TÉCNICA, INNOVACIONES Y PUBLICACIONES DERIVADAS**

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO, ESTADO ACTUAL DE LA TÉCNICA, INNOVACIONES Y PUBLICACIONES DERIVADAS

1.1. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Aunque existe un elevado incremento en la tendencia a consumir frutas y hortalizas frescas, no hay que olvidar que los vegetales cosechados están sujetos al deterioro como resultado de la respiración, de los cambios bioquímicos y de la actividad microbiana que condicionan drásticamente la calidad del vegetal en el momento de consumo. Se han utilizado numerosas técnicas para prevenir el deterioro y mantener la calidad del producto. Entre éstas destacan la atmósfera controlada (AC) y la de envasado en atmósfera modificada (EAM) mediante polímeros plásticos. Estas técnicas están cada vez más extendidas y se utilizan siempre como coadyuvantes de la refrigeración para preservar mejor la calidad. La técnica EAM, mucho más económica, flexible y sencilla de utilizar que la AC, representa el último desarrollo en la protección y mantenimiento del frescor de los alimentos en general. Los objetivos principales de esta técnica aplicada a productos vegetales frescos, generalmente a piezas enteras individuales o a un lote de piezas de reducido tamaño, son minimizar la tasa de respiración, inhibir las reacciones bioquímicas de descomposición y retrasar el desarrollo microbiano.

El EAM ha logrado una tremenda popularidad en EE.UU. y Europa desde la década de los años 1980. Desde entonces ha sido objeto de numerosos estudios y publicaciones científicas que, en 1990, llegaron a alcanzar más de 4.000 artículos.

El principal efecto beneficioso del EAM sobre el mantenimiento de la calidad, reside en mantener un microclima en el espacio de cabeza del envase rico en humedad para reducir la deshidratación. Adicionalmente, en este espacio se modifica la presión parcial de los gases metabólicos, especialmente el O₂ y el CO₂, hasta niveles que minimizan los procesos fisiológicos de deterioro, siempre y cuando se aplique correctamente. Esta modificación de la atmósfera se consigue principalmente por el balance gaseoso entre el proceso respiratorio del producto vivo envasado y la permeabilidad selectiva del envase a los gases.

La investigación sobre el EAM se ha realizado tradicionalmente probando empíricamente nuevas envolturas plásticas en distintos productos. Sin embargo, esta investigación se va dirigiendo a estudiar diseños de envase que permitan conocer a priori si un determinado sistema EAM va a poder generar y mantener atmósferas que sean favorables para preservar la calidad del producto. Esto se consigue evaluando los requerimientos de permeabilidad del envase y la actividad respiratoria del producto para, posteriormente, establecer un diseño del envase adecuado. La manera de abordar esta investigación de forma eficiente y rigurosa es aplicando modelos empíricos dinámicos o mecanicistas de cada uno de los componentes del sistema, esto es, modelos de permeabilidad del envase, de actividad respiratoria y del seguimiento de la atmósfera en el espacio de cabeza. Por último, es necesario validar estos modelos y realizar las experiencias de conservación que permitan corroborar los resultados de la modelización.

Los estudios de aplicación de atmósferas modificadas a la lechuga son escasos, a pesar de que se trata de unos de los productos vegetales más consumidos en EE.UU. y en Europa. Esta afirmación, unida a que se trata de una de las hortalizas más cultivadas en la comarca del Campo de Cartagena en la Región de Murcia, justifica este estudio. La lechuga Iceberg no está exenta de alteraciones durante su cultivo y comercialización. Es especialmente importante el desorden denominado nervaduras rosáceas, alteración fisiológica común de las lechugas que causa elevadas pérdidas de calidad y, por tanto, económicas.

Tradicionalmente, las cabezas individuales de lechuga Iceberg se envasan en polipropileno macroperforado. Este envase permite mantener una elevada humedad en el espacio de cabeza pero no es capaz de modificar los niveles de los gases metabólicos, por lo que no se aplica la técnica EAM en su amplio sentido, impidiendo de este modo beneficiarse de los niveles óptimos de O₂ y CO₂ alrededor del producto.

1.2. NECESIDADES DE INVESTIGACIÓN

En la actualidad, la lechuga Iceberg de primera calidad se exporta comúnmente en envases plásticos individuales de polipropileno macroperforado. Es el denominado polipropileno CAST macroperforado (36 perforaciones de 2 mm de diámetro por dm²). Este polipropileno ha sido comercializado por varias empresas entre las que se pueden mencionar Industrial Bolsera Granadina S.A., sita en Granada; Plásticos del Segura S.L., y Envapack, S.L., estas dos últimas localizadas en Murcia, como tres de las principales que suministraron este envase a las empresas para su utilización en la lechuga durante los años 1990.

La aplicación de este material confeccionado a la lechuga tiene un origen incierto, pero está claro que obedece a la resolución de dos problemas. Por un lado, evitar el marchitamiento y, por otro, aumentar el valor añadido al obtener un producto más higiénico y dotado de mejor aspecto. Además, el envase perforado evita acumulaciones excesivas de CO₂ que es perjudicial para la lechuga. Se trata de un envase perforado que aporta seguridad, ya que si se rompe la cadena de frío desde el origen hasta el consumo, algo por desgracia habitual, no se elevan los niveles de CO₂ en el interior del envase hasta niveles dañinos.

Como es natural, se podría optimizar el uso de algún envase no perforado pero dotado de una permeabilidad adecuada para evitar las acumulaciones perjudiciales de CO₂, teniendo presente que el mantenimiento de la cadena de frío es fundamental para que los esfuerzos dedicados a la mejora de la calidad puedan tener éxito. Para ello, es necesario hacerse las siguientes preguntas:

1. ¿Es la lechuga cultivada en la comarca del Campo de Cartagena muy sensible al CO₂? ¿En qué medida?
2. ¿Qué influencia tienen las condiciones de conservación sobre los efectos deletéreos de este gas?

3. ¿Es excesiva la perforación del envase utilizado actualmente? ¿Se puede mejorar la calidad de la lechuga reduciendo el tamaño y/o número de perforaciones?
4. ¿No se mejoraría la calidad si se eliminara esa macroperforación para reducir todavía más el marchitamiento y provocar un efecto beneficioso de la reducción del O₂?

En el presente trabajo se trata de dar respuesta a estas preguntas desde un punto de vista científico-técnico y, como consecuencia, sentar las bases para conseguir la mejora de la calidad de este producto en vistas a ampliar su mercado en la distancia o en el tiempo.

1.3. ASPECTOS NOVEDOSOS DEL PRESENTE TRABAJO

Las principales novedades que aporta este trabajo han sido las siguientes:

1. Caracterización del potencial de conservación de los principales ciclos de lechuga Iceberg cultivada en la Región de Murcia a lo largo del año.
2. Definición y valoración de aspectos relacionados con las alteraciones más frecuentes de las lechugas cultivadas en la Región de Murcia y de los métodos para reducir su incidencia.
3. Determinación de las propiedades de permeación a los gases metabólicos de los plásticos de uso común y su relación con la temperatura.
4. Establecimiento de un sistema para determinar la actividad respiratoria y la emisión de etileno de la lechuga Iceberg entera y mínimamente procesada en atmósfera de aire.
5. Establecer las bases para confeccionar un sistema EAM para conservar la lechuga Iceberg, es decir, la adecuación de un modelo matemático para diseñar envases adecuados para la conservación de la lechuga en respuesta a las necesidades futuras de investigación expuestas por Zagory y Kader, 1989; Kader, 1990a y Gorris, 1998.

1.4. MÉTODOS EXPERIMENTALES Y PRODUCTOS DESARROLLADOS

Los métodos experimentales y los productos desarrollados en este trabajo han sido los siguientes:

1. Establecimiento de un nuevo método isostático de medida de permeabilidad de los polímeros plásticos a los gases con la finalidad de incrementar la exactitud de las medidas y detectar rápidamente microfugas gaseosas.

El principio del método isostático de permeabilidad fue descrito por Landrock y Proctor (1952) y mejorado por Taylor *et al.*, (1960). Posteriormente, Karel *et al.* (1963),

fueron los primeros en modificar el método de incremento de la concentración con la aplicación del análisis de gases por cromatografía. Este nuevo protocolo permite adicionalmente determinar la permeabilidad de los polímeros plásticos a cualquier temperatura, por lo que es directamente aplicable a la utilización de modelos matemáticos de estimación de la AM en refrigeración, factor decisivo para un adecuado diseño del envase. Este método fue revisado por el Comité Científico de Iberolab, que depende del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino y que aprobó su publicación en el III Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (2005), y se ha incorporado al presente trabajo en el Capítulo 3.

2. Desarrollo de una sistema estático de medida de la actividad respiratoria y de la emisión de etileno en atmósfera de aire.

Dado que la respiración depende de los niveles de O₂ y CO₂ de los tejidos, este método sirve de gran ayuda para el modelado de la atmósfera en el interior de los envases plásticos. Este protocolo fue revisado por el Comité Científico de Iberolab, que aprobó su publicación en el IV Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (2007), y se ha incorporado al presente trabajo en el Capítulo 4, con resultados adicionales en el Capítulo 5.

1.5. PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTE ESTUDIO

La realización de los estudios conducentes a este trabajo presentado como Tesis Doctoral en la Universidad de Murcia ha ido paralela al desarrollo de la transferencia de tecnología sobre el tema por nuestro grupo investigador para las empresas del Campo de Cartagena: Agrícola Mar Menor, S.L., Gregal Sociedad Cooperativa, S.A.T. San Cayetano y Kernel Export, S.L., entre los años 1992 y 2000. Todos los experimentos diseñados desarrollados en este estudio cuentan con la ventaja de la experiencia y estudio acumulado por el grupo investigador y estas empresas punteras sobre la conservación y comercialización de la lechuga Iceberg. Igualmente se han redactado los diversos artículos que se listan a continuación:

Artés, F., **Martínez, J.A.** 1994. Effects of vacuum cooling and packaging films on the shelf life of 'Salinas' lettuce. Proceeding of International Conference. Refrigeration and Quality of Fresh Vegetables. Refrigeration Science and Technologie: Ed. International Institute of Refrigeration, Brest, Francia, 5: 311-315.

Escrache, A.J., Artés, F., **Martínez, J.A.** 1994. Alteraciones de origen patológico en la post-recolección: II Lechuga. Phytoma 54: 23-27.

Artés, F., **Martínez, J.A.** 1996. Influence of packaging treatments on the keeping quality of 'Salinas' lettuce. Lebensmittel - Wissenschaft & Technologie 29: 664-668.

Artés, F., Vallejo, F., **Martínez, J.A.** 1996. Determining gas permeability characteristics of some suitable plastic films for minimally processed foods. GDL/EFFoST. The European Federation of Food Science and Technology Conference, 6-8 noviembre, Colonia, Alemania. CD-ROM.

- Artés, F., Marín, J.G., **Martínez, J.A.** 1998. Permeability rates of films for modified atmosphere packaging of respiring foods. COST 915 Copernicus CIPA-CT 94-0120. Workshop on Food Quality Modelling, 4-6 junio, Lovaina, Bélgica. Nicolai, B.M., De Baerdemaeker, J. (eds.). European Communities 153-158.
- Artés, F., **Martínez, J.A.** 1998. Gas transmission characteristics of different films for packaging intact and minimally processed fruits and vegetables. Proceedings International Congress for Plastic in Agriculture, 9-14 marzo, Tel-Aviv, Israel, Ben-Yehosua, S. (ed.), Laser Pages Publishing, LTD: 481-486.
- Artés, F., **Martínez, J.A.**, Marín, J.G. 1999. Quality changes in minimally processed 'Romaine' lettuce as affected by several treatments. En: Agri-Food Quality II. Quality Management of Fruits and Vegetables – From Field to Table. Hägg, M., Ahvenainen, R., Evers, A.M., Tiilikkala, K. (eds.). The Royal Society of Chemistry, Londres, Reino Unido: 115-118.
- Martínez, J.A.**, Artés, F. 1999. Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested Iceberg lettuce. Food Research International 32(9): 621-627.
- Martínez, J.A.**, Artés, F. 2002. Efectos de la prerrefrigeración y de diversos polímeros en la conservación de la lechuga "Iceberg" ciclo "Astral". 3er Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, 3-6 diciembre. Santiago de Chile, Chile. Abstract en: Simiente 72(3-4): 86.
- Martínez, J.A.**, Chiesa, A., Tovar, F., Artés, F. 2003. Actividad respiratoria y producción de etileno en lechuga *Iceberg* procesada en fresco. 9º Congreso Nacional de Horticultura. Montevideo, Uruguay, 1-4 abril. CD-ROM.
- Martínez, J.A.**, Artés, F. 2005. Mejora en la conservación de la lechuga acogollada mediante envases de polipropileno no perforado. Agrochimica 49(1-2): 29-41.
- Martínez, J.A.**, Artés, F. 2005. Nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de gases a través de membranas poliméricas. Aplicación a la técnica de envasado de productos hortofrutícolas en atmósfera modificada. III Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España. CD-ROM.
- Martínez, J.A.**, Chiesa, A., Tovar, F., Artés, F. 2005. Respiration rate and ethylene production of fresh cut lettuce as affected by cutting grade. Agricultural and Food Science 14(4): 354-361.
- Martínez, J.A.**, Artés, F. 2007. Adecuación de un sistema dinámico de medición de la actividad respiratoria a la lechuga Iceberg. IV Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España. CD-ROM.

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. OBJETIVOS DEL TRABAJO

El principal objetivo de este trabajo ha sido caracterizar el comportamiento poscosecha de diferentes variedades o ciclos de lechuga Iceberg cultivadas en la comarca del Campo de Cartagena de la Región de Murcia y envasadas para su comercialización en diferentes tipos de polímeros plásticos de permeabilidad selectiva. Este estudio se ha enfocado para evaluar y mejorar la calidad global de la lechuga durante un período máximo comprendido entre 17 y 18 días como máximo con el fin de lograr acceder a mercados lejanos en buen estado de conservación.

La secuencia de este trabajo se ha planteado caracterizando primeramente los materiales plásticos de envasado y la actividad respiratoria de la lechuga como factores fundamentales para optimizar un sistema adecuado de diseño del envase que permita mantener los atributos de calidad. Posteriormente, se estudia el comportamiento poscosecha de diferentes ciclos de lechuga Iceberg envasada en AM.

Como objetivos derivados se enumeran los siguientes:

1. Estudio de las alteraciones fisiológicas y microbiológicas de la lechuga Iceberg cultivada en el Campo de Cartagena y su influencia en la pérdida de calidad.
2. Estudio de la permeabilidad a los gases metabólicos de los envases plásticos más comunes utilizados en la comercialización hortofrutícola.
3. Estudio de la respiración de la lechuga Iceberg entera y mínimamente procesada.
4. Establecer las bases para el diseño de un envase óptimo para comercializar la lechuga Iceberg.

2.2. VARIEDADES COMERCIALES DE LECHUGA

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una planta anual de la familia botánica *Compositae*. El género *Lactuca* posee unas 100 especies, la mayoría en las regiones templadas del Hemisferio Norte (Langer y Hill, 1982; Heywood, 1985; Molina, 1990). Todas ellas son herbáceas, anuales o perennes, capaces de segregar látex. La lechuga común es una planta relacionada botánicamente con la lechuga silvestre *Lactuca scariola* L., una mala hierba común (Salunkhe y Desai, 1984).

Dentro de las variedades, desde el punto de vista comercial destaca, como se ha citado anteriormente, la Iceberg. Es la más producida y exportada de todas, lo cual define la extraordinaria aceptación que presenta en los mercados mundiales, incluidos los europeos. El gran tamaño, firmeza y fibrosidad son los tres aspectos fundamentales que hacen la lechuga Iceberg ideal para el transporte marítimo (Lipton y Ryder, 1989).

La amplia gama de variedades existentes permite que este cultivo, el principal entre las hortalizas de hoja, se recolecte durante todo el año, siendo Murcia, Tarragona y Barcelona sus principales zonas de cultivo (Namesny, 1993). En el Campo de Cartagena el cultivo durante los meses de verano está muy limitado, o no existe, debido a las altas temperaturas.

Agronómicamente, las variedades de lechuga se clasifican de acuerdo a tres características (Maroto, 1983):

- Por su aptitud para formar cogollos.
- Por su adaptación a una determinada estación.
- Por la consistencia de sus hojas.

Thompson, citado por Salunkhe y Desai (1984) y Yamaguchi (1985), clasificaron a las variedades comerciales de lechuga en cinco clases generales:

1. “*Crisphead*” (Iceberg).
2. “*Butterhead*” (Trocadero) o lechugas de hoja mantecosa.
3. “*Cos*” o “*Romaine*” (Romana).
4. “*Leaf*” o “*bunch*” (hojas sueltas, eliminadas de los tallos).
5. “*Stem lettuce*” (“*Celtuce*” o tallos comestibles de lechuga).

La lechuga Iceberg presenta las siguientes características (Lipton y Ryder, 1989):

1. Cogollos firmes formados por hojas que se recurvan sobre sí mismas.
2. Elevado tamaño.
3. Textura frágil, pero relativamente dura.

Pérez-Villarreal y Sarasua (1996), agregaron las siguientes características:

- Limpia, sin restos de tierra.
- Largo período de conservación refrigerada (cerca de un mes).
- Hojas muy duras y lisas.
- Ausencia de repollo.
- Color verde claro.
- Precio medio por peso inferior al de otras variedades.
- Sabor poco intenso (durante el lavado y el acondicionamiento pierde agua y otras sustancias hidrosolubles).

Las variedades o ciclos de lechuga Iceberg típicas de los cultivos de la Región de Murcia dependen de la época del año, es decir, existe una planificación varietal bien establecida (González, *et al.*, 1994; Casanova, 1996). Atendiendo a esta planificación se distinguen los siguientes tres grupos o ciclos:

1. Variedades de otoño (ciclo septiembre-noviembre). Ej. *Astral* (Sluis & Groot), *Nabuco*, *Empire*, *Grandes Lagos*, *Río Verde*, *Salinas*, etc. La *Astral* es muy estable dentro de la Región de Murcia (Casanova, 1996). González, *et al.* (1994) denominan a este grupo como “*Grupo Grandes Lagos*” o variedades mejoradas del genotipo inicial de día corto el cual, al cruzarlo con material vegetal de

procedencia tipo Salinas, ha adquirido mejores cualidades, como son un mayor volumen, acortamiento del ciclo de cultivo, un aumento de su escasa resistencia al frío y cabeza muy compacta. Este grupo tiene tendencia a disminuir el número de variedades y a ser sustituido parcialmente por tipos Salinas.

2. Variedades o ciclos de invierno. Ej. *Coolguard* (Asgrow), *Winterheaven*, *Vanguard 75*, *Red Coach 74*, *Domingos 43*, *Moranguard*, *Pachina*, *Mikonos*, *Yuma*, etc. Para González, *et al.* (1994) estos ciclos se caracterizan por su buen tamaño de acogollado en presencia de frío y por presentar buena tolerancia a la salinidad. Tienen una tonalidad verde oscura y mayor número de hojas que otros tipos.

3. Variedades o ciclos de primavera. Ej. *Salinas*, *Amaral 400*, *El Toro*, *Sea Green*, *Bix*, *Duchesse*, etc. (González, *et al.* 1994). Estas variedades son el ideotipo de la lechuga Iceberg, con su coloración verde intensa, cabeza compacta, forma simétrica, precoz, etc. Este grupo presenta sensibilidad a la salinidad y su cultivo reiterado no es aconsejable en suelos con índices notables de la misma.

Las variedades integrantes del ciclo *Salinas* reúnen las características ideales de la lechuga Iceberg (Casanova, 1996). Ellas tienen forma simétrica y compacta, buen cogollo con abullonado ostensible, hoja no dentada y forma de la cabeza ligeramente achatada. Planta de color verde intenso. Este grupo posee unos caracteres que la hace idónea para plantaciones en días largos, aunque las características definidas pueden variar en función de la climatología, cuidados culturales y fecha de plantación.

El grupo de invierno o verdes se caracteriza por tener un buen tamaño de cogollo y tolerar la salinidad en periodos de bajas temperaturas. La hoja posee una tonalidad verde franco-verde oscura, crujiente, un dentado grueso y bastante pronunciado. El abullonado es grueso, aunque algo menos que en el grupo *Salinas* pero frecuentemente más pronunciado. Acogollado tardío y menos uniforme que el grupo anterior, cogollo de base ancha con tendencia a la esfericidad. Posee un gran número de hojas si las comparamos con otros tipos. Dentro del grupo de invierno, entre las variedades más utilizadas en la Región de Murcia destacan *Winterheaven*, *Wintersupreme* y *Coolguard*, que desarrollan un cogollo largo y son resistentes al virus LMV (González, *et al.*, 1994; Casanova, 1996).

2.3. PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE LA LECHUGA

Los distintos parámetros biológicos de la lechuga argumentan el comportamiento de ésta durante la conservación y, por tanto, las condiciones de almacenamiento que deben ser evitadas. Al mismo tiempo pueden indicar o predecir con cierta viabilidad cual puede ser su comportamiento poscosecha. En la Tabla 2-1, (datos recopilados por Namesny, 1993 y Sastry *et al.*, 1978) se especifican los parámetros biológicos más importantes.

Tabla 2-1. Parámetros biológicos de la lechuga.

Parámetro y unidades	Valores medios obtenidos de la bibliografía ^z
Contenido en agua (%).....	94,8
Intensidad respiratoria a 5°C [mg CO ₂ /(kg•h)].....	10-20
Clasificación de la intensidad respiratoria.....	Moderada
Calor de respiración a 5°C [kcal/(t•día)].....	850-1.050
Tasa producción etileno [μL C ₂ H ₄ /(kg•h)].....	< 0,1
Clasificación de la tasa de producción de etileno.....	Muy baja
Sensibilidad a daños por etileno.....	Sí
Umbral de sensibilidad al etileno.....	Partes por millón
Sensibilidad a daños por frío.....	Ninguna
Susceptibilidad a daños por congelación.....	Alta
Temperatura de congelación (°C).....	- 0,5
Límite mínimo de O ₂ (%).....	2
Límite máximo de CO ₂ (%).....	2-4
Coefficiente de transpiración [mg H ₂ O/(kg•s•megaPascal)].....	7.400

^z valores recopilados de Namesny (1993), a excepción del coeficiente de transpiración (Sastry *et al.*, 1978)

2.4. LA CONSERVACIÓN DE LOS PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS

Las frutas y hortalizas constituyen el caso más común de productos que respiran y, por tanto, que se deterioran con facilidad. Una vez cosechadas continúan viviendo, es decir, mantienen las funciones vitales que repercuten en la calidad y comercialización (Bartsch y Kline, 1992). Por la respiración los vegetales producen CO₂ y consumen O₂. También producen etileno y compuestos volátiles que contribuyen al aroma de los frutos. Están sujetos a enfermedades fisiológicas (desviaciones del metabolismo normal) y microbiológicas, ocasionadas por la infección y colonización de algún microorganismo.

La supervivencia comercial (“*shelf life*”, en la literatura anglosajona) de los alimentos envasados, especialmente los que respiran, depende de las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad relativa -HR- y concentración de O₂), composición del producto (actividad del agua, pH, composición de lípidos, etc.) y de las propiedades del envase (volumen, composición del espacio de cabeza, propiedades barrera (Wagner y Vaylen, 1990). Esta supervivencia comercial está limitada por la edad fisiológica y las pérdidas de agua por transpiración o deshidratación (O’Beirne, 1990, citado por Church y Parsons, 1995). La senescencia empieza cuando las reservas de almidón y otros azúcares almacenados por el producto se consumen. Este proceso ocurre de manera irreversible tras la cosecha. La tasa de consumo de azúcares viene determinada por la tasa de respiración, por tanto, la supervivencia comercial es inversamente proporcional a dicha tasa (Hardenburg, 1971; Day, 1990, citado por Church y Parsons, 1995).

La fase de senescencia, también denominada envejecimiento genéticamente programado (Barceló *et al.*, 1998) o diferenciación terminal (Arteca, 1996), es una etapa

más de la ontogenia de la planta, órgano o tejido. Se caracteriza por una secuencia irreversible de cambios sustancialmente morfológicos y bioquímicos. Este tipo de envejecimiento se diferencia del envejecimiento cronológico (“*ageing*” o “*aging*”, en la literatura anglosajona), porque progresa inexorablemente con el tiempo y tarda tanto más en manifestarse cuanto más eficaces son los mecanismos reparadores celulares (Barceló *et al.*, 1998). En la práctica, los fenómenos de envejecimiento programado y cronológico se dan simultáneamente en la misma planta, aunque generalmente predomina un tipo de envejecimiento sobre otro. En realidad, cuando una planta de lechuga en su fase de juventud es cosechada para ser comercializada, el fenómeno de envejecimiento que ocurre en ella es fundamentalmente cronológico, puesto que al privarle del aporte de nutrientes y agua, se producen errores en la maquinaria celular producidos por reacciones químicas inevitables y por agentes físicos (temperatura, deshidratación, etc.) adversos que pueden desembocar en la muerte celular. De acuerdo con esta apreciación, se debería hablar más de envejecimiento que de senescencia para la lechuga cosechada. Sería senescencia si la madurez comercial de la lechuga coincidiera con una etapa final senescente de la planta, hecho que claramente no ocurre.

El deterioro y, en último extremo, la pérdida final en un período de conservación, está causado por la suma de todos los cambios sufridos por el producto (maduración, marchitamiento, podredumbre, enfermedad fisiológica, etc.). El deterioro fisiológico en las hortalizas ocurre principalmente debido al estrés inducido por la eliminación de los tejidos de la planta madre o bien la planta entera (es el caso de la lechuga). Los tejidos son incapaces de reponer el agua y los substratos metabólicos se están perdiendo y, por tanto, son incapaces de disponer de los productos metabólicos. El resultado se refleja principalmente en una excesiva pérdida de agua y predisposición a la colonización de microorganismos por pérdida de defensas naturales, condición a veces exagerada por los daños mecánicos inevitablemente ocasionados durante la cosecha y manipulación (Segurajauregui y Thorne, 1981). La tasa a la cual ocurren estos cambios está fuertemente influenciada por la temperatura del producto, fiel reflejo de la temperatura del ambiente de conservación. La tasa de respiración suele duplicarse por cada incremento de la temperatura de 10°C (Tomkins, 1967). La maduración y el crecimiento de los hongos están igualmente afectados por la temperatura. Además, las pérdidas de agua por deshidratación dependen del déficit de presión de vapor bajo condiciones normales y, generalmente, es menor cuanto más baja es la temperatura. Por tanto, el deterioro, como efecto conjunto de todos estos cambios, es prácticamente proporcional a la temperatura en exceso sobre un mínimo el cual, según el tipo de producto y la mayor causa de deterioro, oscila entre -1°C y +5°C. El tiempo necesario para alcanzar un estado de deterioro dado en la postrecolección es, por tanto, proporcional a la recíproca de la tasa de deterioro y al tiempo de almacenamiento multiplicado por la temperatura en exceso sobre el mínimo definido anteriormente. Éste es constante y puede ser definido en términos de grados-días (Tomkins, 1967).

De cuanto antecede se deduce que para incrementar el tiempo de almacenamiento de un producto en buenas condiciones es aconsejable reducir al máximo la temperatura por encima del punto de congelación. De cualquier manera, no basta con conocer la temperatura de congelación, ya que algunos frutos se dañan cuando se mantienen un cierto tiempo por debajo de una determinada temperatura, aunque ésta sea superior al punto de congelación; ocurren los denominados daños por el frío (Artés, 1987 y 1995b).

A lo largo de las últimas décadas se han desarrollado valiosas técnicas coadyuvantes de la refrigeración para preservar la calidad de las frutas y hortalizas frescas. La envoltura de estos productos en plásticos o cartones para el almacenamiento bajo refrigeración proporcionan un ambiente adecuado para prevenir el desarrollo de enfermedades durante el mismo (Risse, 1989). El objetivo de estas técnicas desde sus inicios en el pasado siglo fue prolongar al máximo el período de almacenamiento bajo condiciones óptimas de refrigeración (temperatura y HR). Las atmósferas controladas o modificadas combinadas con la refrigeración (nombre común de las técnicas mencionadas anteriormente por Risse en 1989, constituyen los métodos más sofisticados y útiles para la mejora de la conservación de los productos hortofrutícolas. Sin embargo, las técnicas combinadas (refrigeración y AC) son caras no sólo en material sino también en mantenimiento (Smith *et al.*, 1987), por lo que se debe de estimar la supervivencia comercial del producto en las condiciones necesarias de transporte y comercialización y valorar la opción más económica que mantenga el grado máximo de calidad.

El envasado de material hortofrutícola permite al producto mantenerse en buenas condiciones durante toda la cadena logística. Constituye, por definición, un medio de asegurar la calidad e higiene de los productos (Heiss, 1977). Tiene una doble función, por un lado, de protección mecánica y, por otro, de unidad de transporte. Además cumple otra labor importante primaria en los envases abiertos o macroperforados, que es preservar el vapor de agua y ralentizar la deshidratación. El problema más grande del envasado, como afirman Billiard *et al.* (1995), es que las fluctuaciones de temperatura son indeseables pero comercialmente inevitables y esto provoca condensaciones de agua sobre la superficie interna que puede dar lugar a alteraciones microbianas. Para Browne (1944) y muy posteriormente Kader *et al.* (1989), el envasado tiene más funciones, como son la protección del producto, conveniencia, economía y mejora del aspecto para facilitar su adquisición por parte del consumidor. Por ello, Browne (1944) exponía que era muy difícil encontrar en el mercado un envase que cumpliera todos estos requerimientos al mismo tiempo y que, por tanto, el envase perfecto estaba por desarrollar.

La industria de envases flexibles está ampliando su oferta de tipos de polímeros, espesores y gama de permeabilidades a los gases metabólicos y vapor de agua para atender las especificaciones de requerimientos gaseosos y comerciales de todos los productos. Los plásticos comerciales atienden ya a las exigencias de baja, media y alta respiración. Estas especificaciones están definidas principalmente por la actividad respiratoria del producto, dependiente de la temperatura, y de los niveles óptimos de gases respiratorios a estabilizar, evaluados en su conjunto en un diseño de envase.

El envase debe resistir, a menudo, largos períodos de almacenamiento. Al tener contacto con los alimentos no deben migrar sustancias tóxicas hacia ellos, ni deben provocar olores ni sabores extraños. Menos técnico, pero de igual importancia, es el hecho de que un producto debe ser envasado para proporcionar comodidad al usuario a lo largo de toda su existencia. El material del envase también debe ser capaz de ser almacenado y manipulado convenientemente. Otro aspecto muy importante es el económico ya que si un envase no satisface esta exigencia, es evidente que nunca tendrá opciones de aplicación. Otro objetivo es mejorar el aspecto que proporciona al producto, perfectamente identificable con su calidad e higiene. Al mismo tiempo, el envase constituye un soporte ideal para la identificación de sus características, como nombre

del producto, marca, composición, valor nutritivo, etc., si bien, se debe cuidar que las pinturas utilizadas no provoquen migración de ninguno de sus componentes hacia el alimento.

Para Gorny y Gil (1997), el envasado constituye, en el momento actual, una parte fundamental en la industria de la conservación de las frutas y hortalizas frescas, con base científica, que ha desbancado al uso exclusivamente publicitario. Para estos autores el envasado de los productos cumple cuatro funciones básicas:

- Sirve de almacenamiento y de recipiente unitario.
- Es un instrumento de marketing muy poderoso en el punto de venta.
- El envasado asegura la calidad.
- Mejora la sanidad del producto que contiene.

Las típicas preguntas que surgen al elegir y aplicar un envase plástico son las siguientes (Gorny y Gil, 1997):

- ¿Qué tipo de película plástica debe usarse para cada producto?
- ¿Cuál debe ser la atmósfera generada dentro del envase para conservar mejor un producto dado?
- ¿Cómo obtener la atmósfera deseada y evitar una atmósfera perjudicial?

Las respuestas deberán ser las adecuadas cuando se efectúa el diseño del envase con una base científico-técnica.

2.5. APLICACIÓN DE LA REFRIGERACIÓN A LA CONSERVACIÓN DE LOS PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS

Como se ha descrito en el apartado anterior, el deterioro fisiológico de los productos cosechados ocurre primariamente por el estrés inducido al cortar o eliminar el tejido de la planta madre. Este tejido es incapaz de reponer el agua y los substratos metabólicos que va perdiendo paulatinamente. Esta condición de declive, que resulta principalmente del exceso de pérdidas de agua por deshidratación, a menudo predispone al tejido a la invasión de microorganismos patógenos facultativos, situación agravada por la muy probable existencia de daños mecánicos provocados durante la manipulación (Segurajauregui y Thorne, 1981).

La velocidad del deterioro es directamente proporcional a la actividad metabólica del producto cosechado, medida resumidamente como tasa respiratoria. La lechuga presenta una actividad respiratoria de moderada a relativamente alta (Tabla 2-1) y dentro del mismo grupo están la espinaca y la col (Segurajauregui y Thorne, 1981). De acuerdo con estos autores, el período de vida comercial de dichos tres productos se encuentra comprendido entre una y dos semanas a 2°C. Por lo comentado resulta evidente que la refrigeración es el principal sistema que permitirá reducir la tasa metabólica y, por tanto, alargar el período de vida útil de la lechuga.

Se denomina refrigeración cuando la temperatura del ambiente de almacenamiento está por encima del punto de congelación, entre -3 y -1°C (Fellers, 1955; Artés y Artés-Hernández, 2004a) y es la principal técnica utilizada para preservar la calidad de las frutas y hortalizas recolectadas (Smith *et al.*, 1987; Pala y Damarli, 1994). Junto con la HR, son los dos factores más importantes para mantener la calidad durante la conservación (Segurajauregui y Thorne, 1981; Kader, 1990b). La modificación de la atmósfera puede ser también un importante factor, pero siempre acompañado de una humedad y temperatura adecuada. Sin embargo, cuando el producto es expuesto a temperaturas extremas pueden ocurrir desórdenes físicos o químicos (Segurajauregui y Thorne, 1981; Artés, 2000).

Es bien sabido que el frío ralentiza las reacciones metabólicas en general, entre ellas, la actividad enzimática. Consecuencia de los procesos metabólicos y de la cinética de estas reacciones químicas, la velocidad de una reacción aumenta con la temperatura de acuerdo con el modelo de Arrhenius. Por ello, un descenso acusado de la temperatura (el frío) puede suprimir el crecimiento y actividad de la mayoría de los microorganismos que pueden provocar alteraciones sobre los productos conservados (Fellers, 1955; Hardenburg, 1971). El frío moderado, superior al punto de congelación, reduce la velocidad de las reacciones metabólicas en los productos vegetales al modificar la energía de activación, la velocidad máxima y la constante de Michaelis-Menten de las reacciones enzimáticas, así como las concentraciones de sustratos y de los productos de la reacción (Artés y Artés-Hernández, 2004a). La refrigeración perturba los principales procesos ligados al metabolismo energético de la planta, fotosíntesis, respiración y todo el metabolismo general (Lance y Moreau, 1992).

Todos los productos cosechados son almacenados en lugares frescos para preservar su calidad y vida comercial. Los procesos que ocurren en ellos son complejos y se manifiestan en forma de pérdida de calidad durante el almacenamiento. Las tasas y equilibrio de estas reacciones dependen, particularmente, de la temperatura, composición atmosférica y HR. De éstas, la temperatura es la que manifiesta la mayor influencia (Segurajauregui y Thorne, 1981). También influye de forma decisiva sobre el deterioro, como se ha comentado anteriormente, la HR y la composición de la atmósfera alrededor del producto. La humedad ambiental no sólo regula la tasa de pérdidas de agua por deshidratación, sino que también está implicada en la aparición de ciertos desórdenes fisiológicos y proliferación de microorganismos patógenos facultativos. Por otro lado, la modificación de la atmósfera determina, en buena medida, la velocidad de los procesos metabólicos.

Por lo comentado hasta el momento, la temperatura es el factor ambiental más importante por su influencia directa en el deterioro de las frutas y hortalizas recolectadas. La mayoría de los productos tendrían una mayor supervivencia a temperaturas óptimas próximas a 0°C. A las temperaturas por encima de la óptima, la tasa de deterioro aumenta entre 2 a 4 veces por cada 10°C de subida (Kader, 1990b). La temperatura también influye en la germinación y crecimiento de los microorganismos patógenos o saprofitos oportunistas, por lo que repercute indirectamente sobre el deterioro del producto.

La temperatura óptima es el resultado de dos procesos contrapuestos: el incremento usual en la tasa de reacción, siguiendo la ecuación de Arrhenius, y el

incremento de la tasa de inactivación térmica por encima de la temperatura crítica (Segurajauregui y Thorne, 1981).

Los procesos fisiológicos como la respiración, proceso enzimático buen indicador de la actividad metabólica, son afectados, del mismo modo, por la temperatura (Hardenburg, 1971; Lenhinger, 1985; Barceló *et al.*, 1998). Los coeficientes de respiración en función de la temperatura (Q_{10}), definido como el ratio de la tasa de respiración a la temperatura $T+10^{\circ}\text{C}$ respecto a $T^{\circ}\text{C}$, incrementa de forma exponencial de acuerdo con el modelo de Arrhenius. Se ha sugerido (Segurajauregui y Thorne, 1981), que a bajas temperaturas la tasa de respiración es controlada por una enzima con un alto valor de Q_{10} , mientras que a altas temperaturas es limitado por la tasa de difusión de O_2 a través del tejido, un proceso con bajo valor de Q_{10} .

Como los frutos y las hortalizas son organismos vivos, respiran produciendo CO_2 y agua. También desprenden concomitantemente energía en forma de calor, por lo que la refrigeración va encaminada a secuestrar este calor que varía en cantidad de acuerdo con el producto. La HR elevada y controlada debe ir acompañada de la refrigeración para evitar la deshidratación, especialmente en las hortalizas de hoja como la lechuga, muy sensibles al marchitamiento. Por otro lado, es bien conocido que la humedad excesiva favorece la colonización de microorganismos que puede deteriorar el producto. La HR común para la conservación de frutas y hortalizas frescas es del 80 al 90% (Hardenburg, 1971), aunque actualmente se considera que debe ser más elevada, sin producir condensaciones sobre el producto (Artés, 2000). De cualquier manera la refrigeración no es el único método para preservar alimentos. Existen otros métodos, algunos de ellos muy antiguos, que preservan la calidad de los productos alimenticios que no respiran: alimentos fermentados, desecación, congelación, pascalización, irradiación, pasteurización, appertización, conservadores químicos, etc. (Müller, 1981; Adams y Moss, 1995). Pero la refrigeración es más efectiva que otros tratamientos alternativos como la irradiación y el uso de conservantes (Hardenburg, 1971) y el único método que mantiene vivos los tejidos vegetales.

Naturalmente, la temperatura de conservación es el factor que más influye en la consecución y estabilización de una AM. Generalmente la refrigeración a una temperatura óptima combinada con una adecuada HR es el mejor método para extender la supervivencia comercial de los productos hortofrutícolas.

2.6. EL ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS

2.6.1. Definición y características generales

En el mundo actual, existe un elevado incremento en la tendencia a consumir frutas y hortalizas frescas. Ellas están sujetas al deterioro como resultado de la respiración, cambios bioquímicos y actividad microbiológica que, a su vez, dependen de las condiciones ambientales. Se han utilizado varias técnicas para prevenir el deterioro y mantener la calidad del producto, entre éstas están la técnica de AC (o CA-“*Controlled atmosphere*”) y la EAM (o MAP -“*Modified Atmosphere Packaging*”), que están cada vez más extendidas. El acrónimo MAP, todavía utilizado en el idioma español, se debe

traducir como “Envasado en Atmósfera Modificada–EAM” (González *et al.*, 1998; Artés, 2006), acrónimo que se está imponiendo. A veces, con el fin de abreviar se utiliza el término “atmósfera modificada” (AM) cuando hay concurso de envases plásticos (Artés, 1995b y 2000; Romojaro *et al.*, 1996). Rodríguez (1994), utilizó el acrónimo EAP “envasado en atmósfera protectora” con el mismo fin, aunque no lo defendemos porque puede inducir a error a los usuarios de esta técnica.

Las técnicas de modificación de la atmósfera en el ambiente donde se conservan los frutos se dividen en AC y AM. La primera de ellas se realiza en recipientes o envases rígidos con la modificación de la atmósfera de forma pasiva (CAP-“*Controlled Atmosphere Packaging*”) o almacenamiento en AC, generada de forma activa (CAS-“*Controlled Atmosphere Storage*”; Giese, 1997; Gorris, 1998). La segunda de ellas, la técnica EAM, tiene una tremenda popularidad en EE.UU. desde la década de los 80 y posteriormente en Europa. Las AC y AM han sido el objeto de más de 4.000 artículos científicos antes de 1990 (Lioutas, 1988; Kader, 1990a). Lipton (1975) enumeró la existencia de 2.300 referencias acerca de AC hasta 1971. La utilización de AC/AM para períodos cortos de conservación y transporte de productos hortofrutícolas ha incrementado mucho debido a las mejoras introducidas en los contenedores de transporte, envases plásticos y recubrimientos comestibles (Kader, 1990a). Sin embargo, parece que las AC están dando paso cada vez más a las AM. De este modo, las modificaciones de la atmósfera utilizando el sistema de AC se restringen generalmente a instalaciones fijas y contenedores de transporte marítimo, por carretera y ferroviario (Kasmire, 1985).

La técnica EAM se define básicamente como la contención de los alimentos dentro de materiales permeables o barrera a los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado (Young *et al.*, 1988, citados por Church y Parsons, 1995), para inhibir el desarrollo de microorganismos y, por tanto, mantener una elevada calidad de un producto perecedero durante su vida natural o para extender su supervivencia comercial. El término AC y AM se refiere a las atmósferas cuya composición alrededor del producto es diferente al aire (78,08% N₂; 20,95% O₂; 0,03-0,04% CO₂, cantidades variables de vapor de agua y trazas de gases nobles). Es de tener en cuenta que en la actualidad la concentración de CO₂ de la atmósfera está subiendo por el efecto invernadero hasta un nivel de 0,0375%, por lo que se debe redondear ya el valor a 0,04% (Glick, 2004). Lo habitual con el uso de las AM es que se haga descender la proporción de O₂ y/o elevar la proporción de CO₂ (Artés, 1974 y 1976; Kader, 1985a y 1990a; Pala y Damarli, 1994). AC y AM son términos que implican adición o eliminación de gases dentro de un recinto cerrado, independientemente del tamaño, para manipular los niveles de los gases metabólicos (Floros, 1990). Constituye uno de los métodos más efectivos para extender la calidad de los alimentos siempre y cuando se acompañe de la refrigeración a la temperatura más baja posible que no provoque daños por frío (Pala y Damarli, 1994). Beaudry y Lakakul (1995) la definen como la técnica por la cual se juega con la respiración del producto y con la permeabilidad al O₂ y CO₂ de un envase con el fin de modificar las concentraciones de O₂ y CO₂ de la atmósfera de confinamiento a los niveles deseados. En frutas y hortalizas frescas, la técnica EAM consistente en su conservación, ya sean enteras o cortadas, que están vivas y por tanto respiran, bajo polímeros plásticos dotados de permeabilidad definida. Su fundamento se basa en el cambio de las condiciones gaseosas iniciales del entorno inmediato del producto como consecuencia de su metabolismo y la barrera semipermeable que supone

el envase (Artés, 1974, 1976 y 2006; Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996; González *et al.*, 1998).

El principal objetivo de la técnica EAM es la generación de una atmósfera suficientemente baja en O₂ y/o alta en CO₂ para influenciar el metabolismo del producto que se va a envasar y/o la actividad de microorganismos causantes de deterioro residentes en el producto, con el fin de extender la supervivencia comercial de éste. Desde el punto de vista de calidad general, el objetivo del EAM es la prolongación de la supervivencia comercial del producto manteniendo su aspecto, textura, sabor, aroma, calidad nutricional, control de microorganismos patógenos e insectos (Pala y Damarli, 1994), ya que no puede mejorar nunca la calidad inicial del producto (Hardenburg, 1971).

McGlasson (1989 y 1992) define la técnica EAM como un sistema potencialmente económico que extiende la supervivencia comercial de los productos para exportarlos por transporte marítimo refrigerado. A nuestro entender, se debe interpretar esta definición como las necesidades de exportación de frutas y hortalizas frescas desde Australia (país del autor), ya que se trata de una isla.

La técnica EAM representa el último desarrollo en la protección y mantenimiento del frescor de los alimentos en general (Kader *et al.*, 1989; Pala y Damarli, 1994). Sus objetivos principales, generalmente aplicada a piezas individuales o a un lote de piezas de reducido tamaño (Tomkins, 1967), son minimizar la tasa de respiración, inhibir las reacciones de descomposición y retrasar el desarrollo microbiano. La tecnología EAM puede ser utilizada en envases de pequeño tamaño para el consumidor o en “*pallets*” enteros, inyectando una mezcla de gases de composición deseada y diferente a la del aire (Gorris, 1998; Artés, 2006).

La diferencia entre un sistema EAM y el tradicional de AC consiste en que en el EAM no se produce un control externo de la concentración de gas que rodea al producto (Lipton, 1975; Artés, 1976 y 2006; Simith *et al.*, 1987; Zagory y Kader, 1988; Kader, 1985a y 1990b; Ballantyne, 1989; Floros, 1990; Gorris y Peppelenbos, 1992; Romojaro *et al.*, 1996; Gorris, 1998), sino que la atmósfera depende de un equilibrio dinámico entre el metabolismo del fruto y la permeabilidad del plástico utilizado. La consecución de este equilibrio es la base de los potenciales beneficios obtenidos con su aplicación.

El EAM aumenta la duración de la vida de los productos alimenticios; es decir, permite una ralentización de los fenómenos degradativos debidos al desarrollo microbiano y a las reacciones enzimáticas y bioquímicas en general. Las interacciones entre el O₂, el CO₂, vapor de agua, traza de gases respirables por los productos y la comunidad microbiana natural, constituyen las fronteras del proceso de las AM (Frutos, 1993). Las aplicaciones corrientes de las técnicas AC y AM incluyen almacenamientos prolongados de manzanas, peras, kiwis o coles, el almacenamiento temporal de fresas, cerezas y plátanos y el transporte marítimo de la lechuga (Gorris y Peppelenbos, 1992).

El almacenamiento en AC o AM se refiere por tanto a una alteración normal de la composición de la atmósfera que envuelve al producto, de manera que el aire es reemplazado por una mezcla gaseosa adecuada y controlada ($\pm 1\%$ del gas en cuestión) (Lipton, 1975). La AC es la técnica que se utilizó en su comienzo para almacenar peras y manzanas durante la década de 1960. Más recientemente, la definición de AC se ha

extendido a la técnica empleada para contenedores de transporte marítimo a temperatura óptima y condiciones gaseosas adecuadas (O_2 , CO_2 , C_2H_4 y vapor de agua) para la conservación de productos frescos como lechuga, fresa y frambuesa (Brody, 1996). En la actualidad puede ser utilizada en cualquier producto hortofrutícola bajo condiciones específicas, pero el uso de AC se justifica sólo si la calidad de las hortalizas o los frutos tras un período de conservación mejora sustancialmente la conservación que se obtendría durante el mismo período de tiempo en atmósfera convencional de aire. Su aplicación es clara para ralentizar la maduración de frutos y reducir las podredumbres. Los beneficios de su utilización no son evidentes cuando el período de almacenamiento es breve (Burg, 1975).

En la manipulación de todos los productos frescos es deseable mantener la temperatura tan baja como sea posible porque, de esta manera, se alarga el potencial de conservación. Utilizando productos conservados bajo EAM es necesario controlar de forma más rigurosa la temperatura para reducir las condensaciones al mínimo, ya que repercuten directamente en el ataque de microorganismos (Tomkins, 1967). De acuerdo con este autor, el principal objetivo de la técnica EAM es comercial, por lo tanto no es de extrañar la cantidad de polímeros y envases en general que se aplican a los productos hortofrutícolas de forma empírica, sin estudiar previamente y de manera científica, su aplicabilidad, no sólo desde el punto de vista comercial, sino también con el fin de prolongar la supervivencia del producto sin ocasionarle ningún daño. Por ejemplo, si es inadecuada la ventilación o permeabilidad del envase, la pérdida de agua se puede incrementar fácilmente y, al mismo tiempo, se pueden generar niveles dañinos de acumulación de gases metabólicos que, a veces, pasan desapercibidos en el análisis de la calidad.

La aplicabilidad del EAM puede ser bastante compleja, de hecho, es arriesgado generalizar unas condiciones para un determinado producto si no se especifican otras características complementarias de éste. La tolerancia de un producto a las AM depende del estado de madurez en el momento de la cosecha, de la temperatura durante la conservación y la tasa a la cual la atmósfera es modificada (Zagory y Kader, 1988).

El EAM es un sistema estático influenciado por muchas variables: el producto mismo, especialmente la uniformidad de la tasa de respiración durante el almacenamiento, variación del espesor y permeabilidad de diferentes tandas de fabricación del polímero plástico, la saturación de la atmósfera y las fluctuaciones de la temperatura de conservación (McGlasson, 1992).

Las condiciones proporcionadas dentro de un sistema EAM son influenciadas por el tipo de producto y su ambiente: La efectividad depende de las propiedades organolépticas y microbianas de la materia prima, su resistencia al O_2 , CO_2 y C_2H_4 , producción de C_2H_4 y sensibilidad, tasa de respiración, temperatura, HR, composición atmosférica y tipo de envase plástico (Pala y Damarli, 1994).

La base fisiológica de un producto vivo bajo EAM radica en que el producto se coloca en el interior de un envase y es herméticamente sellado (termosellado), entonces se establecen unas condiciones ambientales diferentes a la del aire (Gorny, 1997a). Las condiciones ambientales críticas que el envase puede ejercer son sobre el O_2 , CO_2 , etileno y vapor de agua. Bajos niveles de O_2 y/o altos de CO_2 producen inhibición de las

reacciones de pardeamiento, reducción de la tasa de respiración y de la biosíntesis y acción del etileno. Además, a niveles elevados, el CO₂ es fungistático.

En el almacenamiento de productos hortofrutícolas en AM, después de un período 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 fruto (microambiente o espacio de cabeza del envase). En este equilibrio, la tasa de consumo de O₂ y de desprendimiento del CO₂ equivalen a la tasa de salida de estos gases a través del envase a una temperatura determinada. Estos intercambios, fruto–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 (Beaudry y Lakakul, 1995; Artés, 1976):

- Intensidad de consumo de O₂ por el material vegetal equivalente al flujo total de entrada de O₂ en la bolsa o envase.
- Intensidad de emisión de CO₂ por el material vegetal equivalente al flujo total de salida de CO₂ a través del plástico o envase.

La intensidad respiratoria del producto, características de permeabilidad del polímero, temperatura y HR determinan las condiciones de equilibrio de O₂ y CO₂ dentro del envase. Estos factores intervienen en el control de la atmósfera de equilibrio a diferentes niveles. Por un lado, el vegetal, en función de su naturaleza, intensidad respiratoria y masa; por otro, el polímero que determina la velocidad de paso de los gases de acuerdo con su permeabilidad y superficie de intercambio y, finalmente, la temperatura, que afecta a los valores de la intensidad respiratoria y HR. Estos parámetros controlan el acondicionamiento del vegetal creando un equilibrio de gases en el interior del envase sobre el que no se puede intervenir, a diferencia de la AC en donde se ejerce un control continuo sobre el sistema para regular la atmósfera.

Generalmente, el efecto de la reducción del O₂ y/o elevado CO₂ sobre la reducción de la tasa de respiración se asume ser la primera razón para el éxito de los efectos beneficiosos de AC sobre las frutas y hortalizas (Kader, 1986). La reducción del O₂ es beneficiosa porque retarda la pérdida de textura y aroma asociados con la maduración. Por su parte, la elevación del CO₂ es deseable para reducir el pardeamiento en las superficies cortadas o dañadas y para mantener el color verde de los tallos y de las hojas. Además, los niveles comprendidos entre el 8 y el 25% de CO₂ reducen las podredumbres (Beaudry y Lakakul, 1995).

Las frutas y hortalizas conservadas en AM no sólo cambian los gases metabólicos dentro del envase, sino también las condiciones de humedad, tal y como se ha mencionado y explicado anteriormente. Dentro del envase, la presión de vapor de agua ascenderá hasta equilibrarse con la presión de vapor en el fruto la cual es normalmente equivalente a aproximadamente el 97% de HR. Sin embargo, las pequeñas fluctuaciones tendrán como consecuencia la deposición de humedad sobre la superficie interna del envase. Estas deposiciones pueden agruparse y crear una capa de agua en condiciones completamente saturadas. La condensación de agua puede tener lugar incluso en envases con perforaciones para prevenir la acumulación de CO₂, pero se puede reducir con más perforaciones en el envase o aumentando el tamaño de éstas. La

utilización de bolsas con diferente número de perforaciones constituye un método establecido para reducir las condensaciones (Tomkins, 1967). La modificación de la atmósfera en un envase sellado siempre mejora la retención de humedad, siempre cercana a la saturación, el cual ayuda de manera importante en la conservación del producto, probablemente en mayor medida que los niveles de O₂ y CO₂ (Beaudry y Lakakul, 1995). Estas condiciones de elevada humedad dentro del envase reducen las pérdidas de agua y el marchitamiento pero, al mismo tiempo, promueven el desarrollo de podredumbres. Pero se debe tener en cuenta que las podredumbres de frutos no se limitan únicamente al contenido de humedad, ya que dependen conjuntamente de otros numerosos factores (Tomkins, 1967). Es por ello por lo que se debe de buscar el equilibrio de humedad confinada para evitar el marchitamiento sin provocar condiciones extremas de desarrollo de podredumbres.

La temperatura es crítica en un sistema EAM, puesto que una determinada composición gaseosa puede ser beneficiosa a una temperatura dada y, sin embargo, ser perjudicial a otra diferente más elevada o baja que la anterior, dependiendo del producto (Lipton, 1975). La explicación es trivial, puesto que la temperatura altera la respiración y la permeabilidad de los envases, modificando la proporción de los gases metabólicos en un sistema EAM.

Pala y Damarli (1994), listaron los parámetros de optimización de productos y puntos críticos dentro de un sistema EAM. Estos son:

■ Parámetros del producto

- Calidad organoléptica y microbiológica de la materia prima.
- Temperatura óptima.
- HR óptima.
- Mezcla de gases dentro del envase.
- Resistencia contra la difusión de O₂, CO₂ y C₂H₄.
- Producción de etileno y sensibilidad.
- Respiración.
- Material de envasado.

■ Puntos críticos

- Seguridad microbiológica y supervivencia comercial del producto.
- Sistema de distribución de alimentos.
- Efecto de la luz sobre producto y envase.
- Manejo del producto entre venta y consumo.

Los primeros aspectos a tener en cuenta en el EAM de frutas y hortalizas son (Tomkins, 1967):

- Las características básicas, la actividad fisiológica, y las causas de deterioro de las frutas y hortalizas.
- Las condiciones creadas por las actividades fisiológicas de frutas y hortalizas envasadas.

- El efecto de las condiciones creadas en los envases sobre el “*shelf life*” del producto.
- Los límites de seguridad en el uso de los envases.
- Los requerimientos de permeabilidad de los envases a los gases metabólicos.

2.6.2. Métodos de generación de atmósferas modificadas

En esencia, la técnica EAM siempre se aplica como coadyuvante de la refrigeración a temperatura óptima y consiste básicamente en alojar el producto en un envase plástico, flexible o no, dotado de permeabilidad selectiva a los gases metabólicos y cerrado herméticamente (Martínez *et al.*, 1996; Artés, 2006). Los efectos beneficiosos sobre el mantenimiento de la calidad del producto radican en la reducción del contenido de O₂ y/o elevación del CO₂ en el interior del envase que trae como consecuencia una reducción del metabolismo atrasando, de este modo, la entrada del vegetal vivo en la fase de senescencia.

Los principales intercambios gaseosos que tienen lugar entre el fruto y la atmósfera interna del envase y entre ésta y la atmósfera externa se recogen en la Figura 2-1. Esquemáticamente se produce un empobrecimiento en O₂ y enriquecimiento en CO₂ y vapor de agua como consecuencia de la respiración del producto dentro del envase. La concentración de otros gases como etileno, aromas, etc. dependerá de la permeabilidad del envase plástico y de la acción de las bajas y altas concentraciones finales de O₂ y CO₂ respectivamente (atmósfera de equilibrio) sobre la síntesis autocatalítica del etileno. Si el producto se envasa en un polímero plástico macroporoso, solamente el vapor de agua puede variar significativamente dentro del envase. En la Fig. 2-2 se presenta una fotografía de una lechuga envasada en polipropileno macroporoso y otra en un polipropileno estándar de 25 µm de espesor.

La atmósfera de equilibrio (Fig. 2-3), tal y como se ha explicado al inicio de este punto, se establece de forma diferente según el envasado sea activo o pasivo, tras un período inicial que oscila normalmente entre 1 y 4 días en función del fruto o material vegetal y, especialmente, del volumen libre del envase o espacio de cabeza. Entonces se establece un equilibrio dinámico entre los gases producidos por el material vegetal y los del microambiente que lo rodean en el interior del envase. En este estado de equilibrio el consumo de O₂ y el desprendimiento de CO₂ por el fruto equivalen a la tasa de salida de estos a través de la película plástica a una determinada temperatura.

Estos intercambios gaseosos se producen simultáneamente y para generar una atmósfera estable en el envase es necesario que la intensidad de absorción de O₂ y de emisión de CO₂ por el producto vegetal (respiración) sea equivalente al flujo de entrada y salida respectivamente de ambos gases (permeación). Esta difusión es consecuencia de la diferencia de concentraciones del gas a ambos lados del plástico y depende también de las características moleculares del gas.

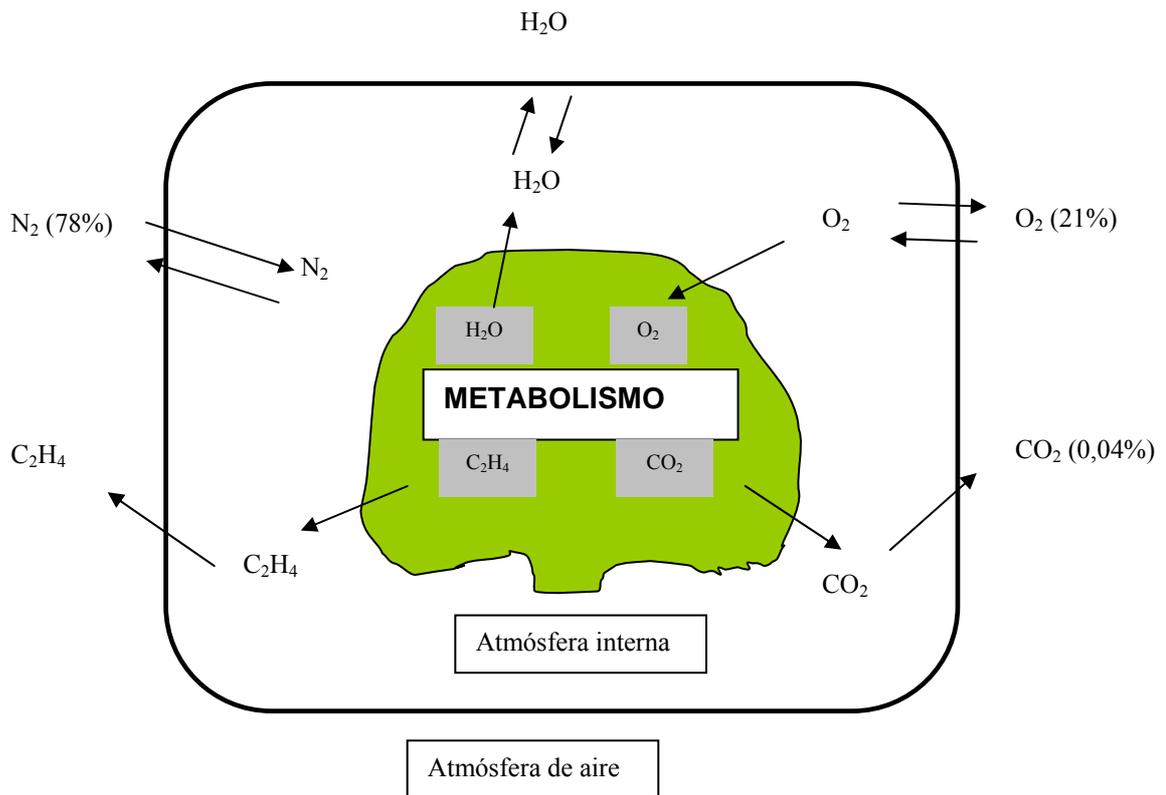
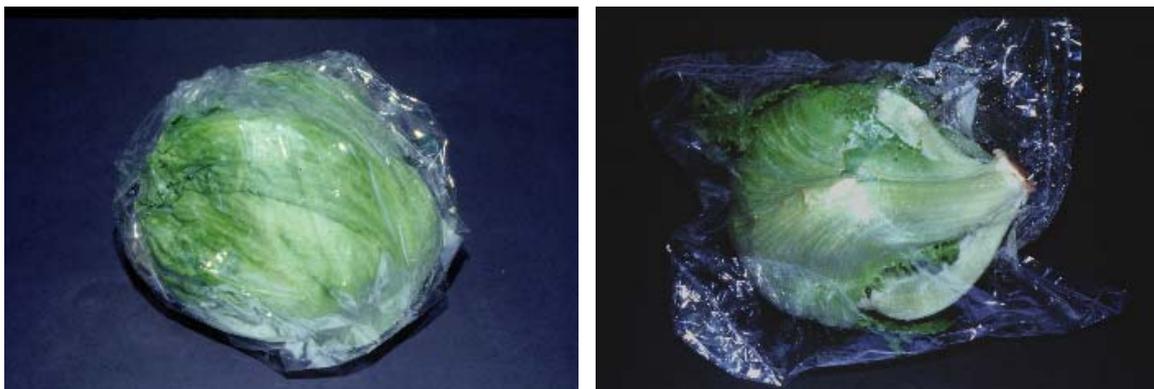


Fig. 2-1. Intercambios gaseosos más comunes entre el producto vegetal (lechuga Iceberg) envasado que respira y la atmósfera de aire a través de la película plástica de permeabilidad selectiva.



PPP

PPS25

Fig. 2-2. Aspecto de cabezas de lechuga Iceberg envasadas en polipropileno macroperforado (PPP) (envase típico con el que se comercializa en piezas individuales) y en polipropileno estándar de 25 m de espesor (PPS25) (una propuesta que mejoró la calidad de las cabezas de lechuga tras los resultados del presente estudio).

Las atmósferas en el EAM se generan de forma pasiva o activa con el concurso de un envase plástico (Aharoni y Ben-Yehoshua, 1973; Artés, 1974, 1976, 2006; Ballantyne, 1988 y 1989; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Floros, 1990; Gong y Corey, 1992; Frutos, 1993; Pala y Damarli, 1994; Rodríguez, 1994; Romojaro *et al.*, 1996).

La generación pasiva o biológica de la atmósfera tiene lugar de forma natural por el flujo que se establece entre la respiración del producto y la permeabilidad del envase a los gases. Por su parte, la generación activa o abiológica se establece por una modificación potente e intencionada de la atmósfera inicial en el momento de envasar el producto. Esta modificación se utiliza cuando no se establecen de forma adecuada el estado de equilibrio de los gases en el espacio de cabeza de éste o cuando se desea un rápido establecimiento de la atmósfera de equilibrio deseada. La utilización de absorbedores de O₂, CO₂, C₂H₄ y vapor de agua son mecanismos utilizados para mantener una atmósfera generada de forma abiológica (Zagory y Kader, 1988; McGlasson, 1990). Este último concepto da pie a establecer un nuevo proceso, el correspondiente al mantenimiento de la atmósfera. Por mantenimiento activo de la atmósfera se entiende la utilización de absorbedores o sustancias que impiden que se establezca el equilibrio natural de los gases metabólicos en el interior del envase o espacio de cabeza. En contraposición, en el mantenimiento pasivo no se ejerce ningún impedimento para que se establezca este equilibrio. No se utilizan absorbedores ni otros productos con efecto sobre el nivel de los gases en el espacio de cabeza de los envases.

Respecto a los absorbedores y productos relacionados, en Japón y países del este de Europa empezaron a desarrollar el EAM incorporando productos inocuos en el interior del envase como absorbedores, adsorbedores y desecantes. En términos anglosajones se denominan: “*scavengers*”, “*scrubbers*”, “*getters*” y “*emitters*” para envasado activo “*active packaging*” (AP) o modificadores activos de la atmósfera. Tienen por objeto extender la duración comercial del alimento a través del control de los gases y de la actividad del agua sin la utilización de aditivos (Wagner y Vaylen, 1990; Martínez-Romero *et al.*, 2009).

En la modificación pasiva, la tasa de cambio de la composición de la AM depende ampliamente del producto y de la permeabilidad del material de envasado. La permeabilidad de este material se seleccionará en base al balance entre el O₂ consumido y el CO₂ desprendido por el producto y la permeabilidad del envase a éste. Sólo entonces, se establecerá la deseada composición atmosférica en el interior del envase (Pala y Damarli, 1994).

La técnica de generación activa de la atmósfera también se conoce, en términos anglosajones, como “*gas packaging*”. La definen Church y Parsons (1995), como la eliminación del aire del interior del envase y su reemplazamiento con una específica mezcla de gases. Los gases que se suelen utilizar son O₂, CO₂ y N₂, aunque últimamente se utiliza también gases nobles (Day, 1994; Brody, 1996) y monóxido de carbono para conseguir efectos fisiológicos deseables (Kader y Morris, 1977; Klaustermeyer *et al.*, 1977; Wolfe, 1980; Riquelme, 1995; Artés, 2006).

La generación activa de la atmósfera a veces se denomina en el ámbito comercial hispano como técnica de envasado bajo atmósfera protectora (EAP). Se define como la sustitución de la atmósfera que rodea al producto en el momento del

envasado por otra especialmente preparada para cada tipo de alimento a base de N_2 , O_2 y CO_2 , lo que permite controlar las reacciones enzimáticas y microbianas, evitando o minimizando las principales degradaciones que se producen durante los períodos de almacenamiento (Rodríguez, 1994). El éxito de su aplicación no depende exclusivamente de la composición de la muestra, sino que han de tenerse en cuenta otros factores importantes como el material del envase, la temperatura de almacenamiento y el equipo de envasado. La forma más extendida de lograr la modificación activa de la atmósfera es a través del barrido con la mezcla gaseosa deseada después de aplicar un vacío para eliminar en la medida de lo posible el aire del interior (Pala y Damarli, 1994). Por este fundamento, Floros, en 1990, estableció un procedimiento experimental para lograr una modificación activa en el interior de un envase flexible: en primer lugar, se introduce un tubo de respiración dentro de la bolsa, que es pinzado de tal manera que se cierre al exterior, y entonces comienza el vacío. Como consecuencia, la bolsa colapsa alrededor del producto porque el aire es eliminado. En este momento se introduce por el tubo de respiración un gas o mezcla de gases deseada, entonces se retira el tubo de respiración y en ese preciso instante se termosella la bolsa dejándola herméticamente cerrada con los gases deseados. Existen otros procedimientos más sofisticados como son las máquinas envasadoras de vacío e inyección de gases, sistemas que se utilizan en el ámbito comercial.

En la conservación de productos hortícolas, la modificación activa de la atmósfera surge debido a que la consecución de la atmósfera deseada en el interior del envase puede ser un proceso lento que puede durar entre 4 y 5 días (Pala y Damarli, 1994). Como consecuencia durante los primeros días de conservación, la atmósfera del envase es sensiblemente más rica en O_2 y pobre en CO_2 que la recomendada. Por modificación activa se puede conseguir una atmósfera ideal desde la confección del envase y, aunque unas horas o días después tenga unos ligeros desajustes lógicos, el equilibrio se alcanzará del mismo modo que utilizando el sistema pasivo de generación.

La reducción del O_2 es generalmente deseable para ralentizar la respiración pero, al mismo tiempo, necesario para la respiración del producto y para que éste no entre en condiciones anaeróbicas que puedan acelerar la senescencia y el desarrollo de microorganismos anaeróbicos (Gorris y Peppelenbos, 1992; Church y Parsons, 1995; Gorris, 1998).

Por otro lado, el CO_2 es un inhibidor del desarrollo microbiano, cuyo modo de acción no está enteramente entendido hasta el momento. No obstante, se conoce que el efecto inhibitorio está directamente relacionado con la cantidad de CO_2 presente (Gill y Tan, 1980, citados por Church y Parsons, 1995), de tal manera que éste es lineal hasta el nivel de 50–60%, por encima del cual puede no ser más efectivo. La solubilidad del CO_2 es inversamente proporcional a la temperatura de conservación, de manera que las bajas temperaturas tienen un efecto sinérgico a su acción. Cuando la concentración del gas es alta, se puede disolver el gas existente como ácido carbónico que puede causar acidificación del alimento. Por último, la absorción del gas por el producto causa reducción del volumen y puede provocar el denominado “colapso del envase”.

Respecto al N_2 , gas inerte sin sabor ni olor, es menos propenso a penetrar al producto o atravesar la barrera del polímero que otros gases comúnmente utilizados. Es por tanto utilizado como gas balance o de relleno de los metabólicos.

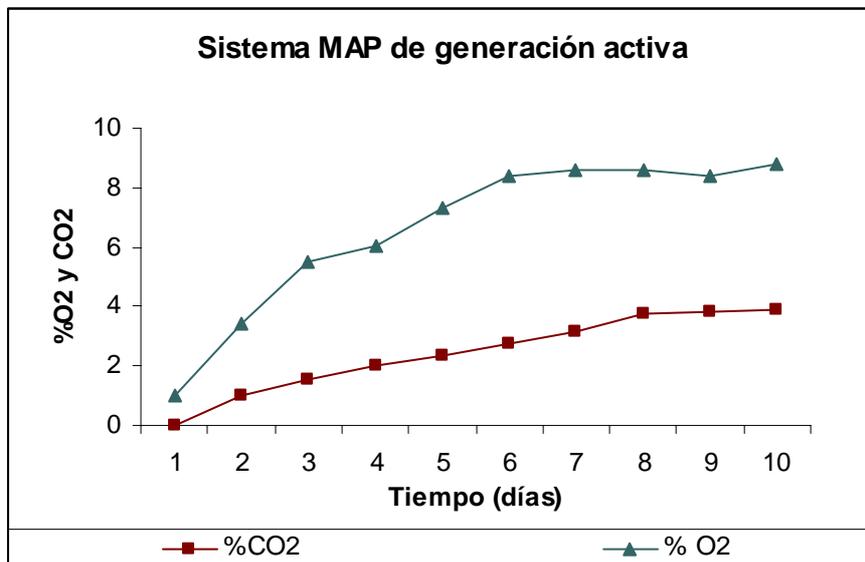
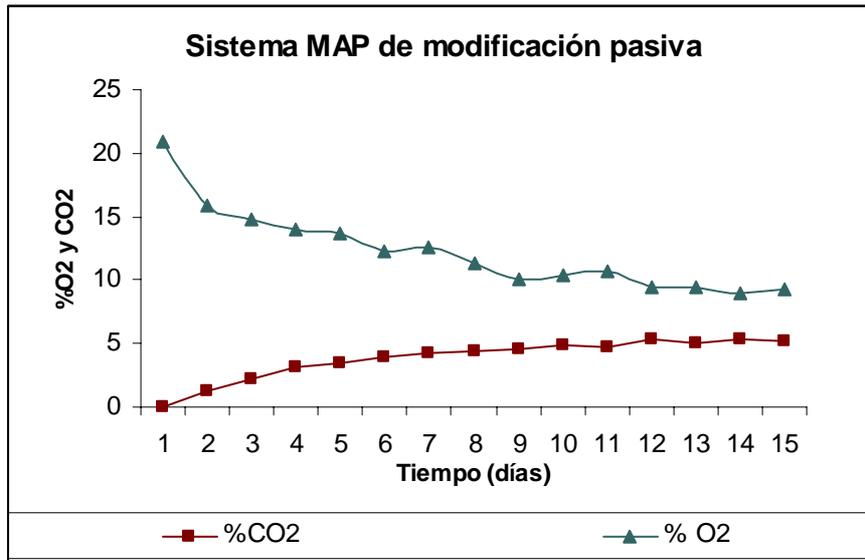


Fig. 2-3. Establecimiento de la atmósfera de equilibrio en función del tiempo en un sistema EAM (MAP) de generación pasiva y activa en lechuga Iceberg. Las oscilaciones de las curvas de las líneas de tendencia son típicas debido al error de medida. Las gráficas corresponden a experimentos realizados por el autor de este estudio.

2.6.3. Factores que influyen en la atmósfera de equilibrio

2.6.3.1. Intensidad respiratoria y temperatura

La intensidad respiratoria afecta directamente a la velocidad de consumo y desprendimiento de gases metabólicos en el producto vivo que respira en el interior del envase. Esta velocidad aumenta con la temperatura.

2.6.3.2. Permeabilidad del polímero y temperatura

Las propiedades de permeación del polímero influyen directamente en la concentración de los gases metabólicos en el interior del envase. Por otro lado, el aumento de la temperatura provoca un incremento de la permeabilidad del polímero.

Lógicamente, es necesario que estos factores permanezcan invariables para el mantenimiento adecuado de la AM de equilibrio (Zagory y Kader, 1988).

2.6.4. Efectos de la atmósfera modificada sobre la fisiología de los productos hortofrutícolas

Las AM influyen en el deterioro de los productos hortofrutícolas como resultado de las reacciones bioquímicas que desencadenan. Actúan sobre la constante de Michaelis-Menten de las enzimas, difusión en la solución, en los espacios intercelulares, equilibrio entre el gas como tal y disuelto y sobre la difusión a través de los tegumentos de los frutos (Burton, 1978).

Burton (1978), sugirió que los efectos beneficiosos del almacenamiento en baja concentración de O₂ son el resultado de la supresión de la actividad de enzimas que presentan una relativamente baja afinidad a concentraciones bajas de O₂, tales como la polifenolasa, citocromos tipo *b*, ácido ascórbico oxidasa y ácido glicólico oxidasa. Por otro lado, el incremento de CO₂ afecta inmediatamente a las descarboxilaciones reversibles tales como las que intervienen el piruvato, citrato y α -cetoglutárico. Los efectos adicionales como la acumulación y recanalización de intermediarios respiratorios pueden ser de mucha envergadura.

El principal efecto de la modificación adecuada de la atmósfera es el descenso de la tasa respiratoria, con lo que se traduce en una disminución en el consumo de sustratos, producción de CO₂, consumo de O₂ y desprendimiento de calor. El resultado final es un frenado del metabolismo y, por tanto, un potencial de conservación más largo (Romojaro *et al.*, 1996). Las bajas concentraciones de O₂ y/o altas de CO₂ pueden alterar el metabolismo de algunos constituyentes responsables del color, textura, sabor, aroma y/o la velocidad de su degradación o formación. Sin embargo, si son bien aplicadas, se pueden obtener modificaciones beneficiosas como son por ejemplo, en hortalizas, el endurecimiento de las puntas del espárrago verde y el mantenimiento más tierno del brócoli (Romojaro *et al.*, 1996; Serrano *et al.*, 2006).

Una vez llegados a este punto, se debe tener en cuenta en un sistema EAM que la respiración no es la única actividad biológica de los tejidos de las plantas que requiere O_2 ; un fenómeno fisiológico de extrema importancia, la senescencia, puede continuar sin necesidad de incrementar la respiración (Zagory y Kader, 1989).

La disminución de la intensidad respiratoria en los productos sometidos a EAM es proporcional a la concentración de O_2 , aunque es necesario que ésta no sea inferior a 0,5 a 1,5% (punto de extinción de la fermentación o punto de compensación anaeróbica, variable con el tipo de producto), pues de lo contrario se iniciará el metabolismo anaerobio (Artés, 2006). Este nivel crítico de O_2 depende esencialmente de la especie, variedad, temperatura y tiempo de conservación. Esta concentración difiere de la real a la que se produce metabolismo anaerobio (0,2%) debido al gradiente de concentración de O_2 de la misma hasta el exterior de la célula (Romojaro *et al.*, 1996). La reducción de la concentración de O_2 reduce la tasa de respiración, aunque en función de la temperatura, producto, variedad y edad fisiológica en el momento de la recolección. Por debajo del 2% de O_2 , se produce habitualmente una transición entre respiración aerobia y anaerobia con un concomitante aumento de la producción de CO_2 por acumulación de NADH o poder reductor en general y piruvato que no pueden ser oxidados en último término en la fosforilación oxidativa. La fermentación posibilita la producción de NAD^+ a partir de NADH que asegura la producción de ATP vía glicolítica y un incremento de la tasa de la glicolisis (Peppelenbos, 1996). En situaciones de bajas concentraciones de O_2 , la ruta glicolítica replaza al ciclo de Krebs como principal fuente de energía de los tejidos de las plantas (Kader, 1986).

Al ser el O_2 sustrato no solo de la citocromo oxidasa, enzima implicada en el proceso de respiración, sino también de numerosas oxidasas, ascórbico oxidasa, fenolasa, peroxidasa, AIA oxidasa, lipoxigenasa, amino oxidasa, etc., bajas concentraciones del mismo pueden modificar también los metabolitos en los que intervienen estas enzimas.

La elevación del CO_2 puede tener también un efecto supresivo del metabolismo respiratorio dependiendo de la temperatura, producto y variedad. Los niveles de CO_2 por encima de los límites de tolerancia de un producto en particular pueden dar lugar a una acumulación de acetaldehído y etanol dentro de los tejidos, indicando un cambio a respiración anaerobia (Zagory y Kader, 1989). En general, los frutos y hortalizas, si se mantienen a menos de $5^\circ C$ suelen tolerar durante unos días niveles de CO_2 incluso superiores a 20 kPa, pero muy pocos toleran tan elevados niveles algunas semanas (Artés, 2006). Niveles altos de CO_2 pueden también afectar a la respiración, cuando la concentración es elevada, del orden del 20%, dependiendo del material vegetal y del nivel de O_2 se puede inducir la respiración anaerobia (Ballantyne, 1989). La elevada concentración de CO_2 , inhibe la actividad del enzima succinato deshidrogenasa, por lo que se acumula el ácido succínico que es tóxico para los tejidos de la planta (Kader, 1986).

Solomos (1994), describió ampliamente los efectos de las AM sobre el metabolismo de los tejidos de las plantas resumidos en los siguientes puntos:

- Efectos de los bajos niveles de O_2 sobre la senescencia de tejidos de plantas cosechadas. Los efectos del O_2 sobre la maduración de frutos incluyen una

disminución de la tasa de respiración, un retraso en el climaterio sobre el aumento del etileno y un decremento en la tasa de respiración.

- Efectos de los elevados niveles de CO₂ sobre la senescencia de tejidos cosechados de plantas. No es conocido el modo de acción del CO₂ sobre la senescencia. Burg y Burg (1967), citados por Solomos (1994), sugirieron que el CO₂ es un inhibidor competitivo del etileno. El CO₂ es una molécula activa metabólicamente que participa en un número de reacciones de carboxilación. Adicionalmente, es de esperar que altas concentraciones de CO₂ puedan alterar el pH del citoplasma celular que afecta sensiblemente al metabolismo. Las condiciones de anoxia generadas por el CO₂ inducen cambios en un número determinado de metabolitos que son diferentes de los observados cuando el tejido se mantiene bajo N₂. Para la acción de la ACC oxidasa se requiere CO₂.

Respecto a la acción del etileno y su biosíntesis, los bajos niveles de O₂ reducen la producción de etileno, mientras que la acción del CO₂ sobre la síntesis y los efectos del etileno es compleja y todavía no se ha podido establecer la interacción entre ambos gases (Romojaro *et al.*, 1996). El CO₂ es considerado como un inhibidor competitivo de la acción del etileno (Burg y Burg, 1967, citados por Romojaro *et al.*, 1996). Laties (1995), criticó los estudios poscosecha sobre la maduración considerando únicamente la respiración sin tener en cuenta el papel del etileno. El etileno puede inducir la respuesta respiratoria sin una maduración concomitante. Burg y Burg, 1967, citados por Kader, (1986) demostraron que se requiere O₂ para la síntesis y acción del etileno.

La concentración de O₂ por debajo del 8% puede disminuir la producción de etileno y la sensibilidad a éste en frutas y hortalizas frescas (Zagory y Kader, 1989). Esto puede ser debido a la inhibición de la conversión del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) a C₂H₄, el cual requiere O₂ (Zagory y Kader, 1989).

La eliminación del etileno de los envases mejora la calidad y reduce las pérdidas por desórdenes fisiológicos. Las características de permeación del envase tienen que ser suficientemente elevadas para evitar las acumulaciones en el interior de éste. De cualquier manera, también se puede introducir absorbedores de etileno para este propósito. También hay que tener en cuenta las interacciones con las acumulaciones de gases respiratorios que pueden inhibir su síntesis (Smith *et al.*, 1987).

2.6.5. Ventajas de la aplicación de las atmósferas modificadas

En la celebración del 50 Aniversario del Instituto de Tecnólogos de Alimentos de EE.UU., en el año 1989, se hizo una encuesta para que los profesionales indicasen las diez innovaciones más importantes que, a su juicio, se habían producido en los anteriores 50 años en el campo de la ciencia y tecnología de los alimentos. El resultado situó en quinta posición al envasado de alimentos en AM (Espinosa, 1993). Sin embargo, el único punto en contra en este aumento reside en que generalmente prima el efecto estético del producto envasado sobre la aplicación del envase más adecuado para un determinado producto en unas condiciones dadas. Esto implica que en la mayoría de las ocasiones se utilicen envases macroporados para evitar riesgos de anaerobiosis en caso de interrupción de la cadena de frío. Estas presentaciones sólo aportan un beneficio al producto al nivel de reducción de pérdidas de peso y consecuente retraso del

marchitamiento. Quizás este ha sido el principal criterio elegido para seleccionar el clásico polipropileno macroperforado para envasar la lechuga Iceberg.

Hoy en día, la utilización del EAM está en un fuerte aumento. Wolfe (1980), señaló una tendencia de subida exponencial entre los años 1974 hasta 1978, especialmente los pequeños envases destinados al consumidor, avalado por el pequeño coste que supone esta presentación. Este mismo autor mencionó que el control de la temperatura es fundamental y que las AM pueden ser indistintamente utilizadas para extender la supervivencia comercial o para mantener una elevada calidad.

Es claro que las AM influyen profundamente el metabolismo de los tejidos de las plantas de diferentes maneras que han sido resumidas a lo largo de este Capítulo. Estos efectos pueden ser favorables o no sobre la calidad del producto. Los beneficios de las AM, como se ha mencionado anteriormente, dependen del producto, variedad, estado de madurez o edad fisiológica, calidad inicial y concentraciones de O₂, CO₂ y C₂H₄, temperatura y duración de la exposición a estas condiciones. Si estas variables son conocidas y consideradas, los beneficios son evidentes cuando se aplican adecuadamente (Zagory y Kader, 1989; Artés, 2000).

Los efectos beneficiosos del EAM se deben básicamente a la reducción de los niveles de O₂ e incremento de los de vapor de agua y de CO₂ (Solomos, 1994). Para Hardenburg (1971), el principal beneficio de las AM no es aportado por la modificación adecuada de los gases metabólicos alrededor del producto, sino por el mantenimiento de una atmósfera con alto contenido de vapor de agua. Para desarrollar apropiados sistemas EAM se deben conocer la tasa de intercambio gaseoso del producto durante la respiración, la permeabilidad a estos gases del envase y la tolerancia del material vegetal a los niveles de O₂ y CO₂ generados. Las ventajas del uso de las AM derivados de la modificación de los niveles de O₂, CO₂ y vapor de agua extraídos de varios autores se resumen en los siguientes puntos:

- Prolongación de la supervivencia comercial, lo que permite acceder a mercados más lejanos (Artés, 1974 y 1977; Zagory, 1997), especialmente para extender el período de transporte (Wolfe, 1980).
- Reducción de la intensidad respiratoria y del máximo climatérico (Wolfe, 1980; Kader, 1985b; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Romojaro *et al.*, 1996; Zagory, 1997).
- Aumento de los períodos de tiempo preclimatérico y climatérico del fruto, lo que permite realizar el envasado del mismo en un estado fisiológico más cercano a la madurez sensorial (Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996).
- Reducción de los efectos del etileno en los frutos climatéricos y, consecuentemente, un retraso de la senescencia (Kader, 1985b; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Romojaro *et al.*, 1996).
- Limitación de la pérdida de peso y disminución de los procesos de arrugamiento de los tejidos o marchitamiento (Lioutas, 1988; Zagory y Kader, 1988; Risse, 1989; Pala y Damarli, 1994; Romojaro *et al.*, 1996). Para

Hardenburg (1971), el efecto retardador del marchitamiento es la principal ventaja del uso de las atmósferas modificadas.

- Mantenimiento de la textura del producto (Lipton, 1975; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Risse, 1989; Zagory y Kader, 1989; Romojaro *et al.*, 1996; Zagory, 1997).
- Disminución más lenta de los contenidos de azúcares, ácidos y vitamina C (Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996) que se manifiesta en el mantenimiento del sabor y aroma (Pala y Damarli, 1994). Ralentización de la pérdida de provitamina A (β -caroteno) (Kader *et al.*, 1989)
- Retraso en la degradación de clorofilas y síntesis de pigmentos (carotenoides y antocianos) que se traduce en un mantenimiento de color (Lioutas, 1988; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Risse, 1989; Zagory y Kader, 1989; Pala y Damarli, 1994; Romojaro *et al.*, 1996).
- Retraso de la oxidación de compuestos fenólicos (Kader *et al.*, 1989; Zagory y Kader, 1989), y reducción parcial o total de la actividad polifenol oxidasa (PPO) (Kader *et al.*, 1989).
- Retraso de la degradación de las proteínas (Zagory y Kader, 1989).
- Influencia sobre la estabilización de los minerales (Zagory y Kader, 1989).
- Limitación total o parcial de alteraciones fisiológicas, como daños por frío, escaldado, pardeamientos, etc. (Lipton, 1975; Kader, 1985b; Kader *et al.*, 1989; Risse, 1989; Zagory y Kader, 1989; Artés *et al.*, 2002).
- Reducción del desarrollo de microorganismos, como consecuencia de la acción fungistática y bactericida del CO₂ (Lipton, 1975; Wolfe, 1980; Kader, 1985b; Zagory y Kader, 1988; Kader *et al.*, 1989; Zagory y Kader, 1989; Romojaro *et al.*, 1996; Zagory, 1997).
- Mantenimiento de la calidad general interna incluso a temperaturas que no son las óptimas de conservación (Wolfe, 1980; Risse, 1989; Pala y Damarli, 1994).
- Retraso del cambio de sabor y olor asociado a la maduración (Lioutas, 1988; Zagory y Kader, 1989) y retraso de la maduración en general (Lipton, 1975; Lioutas, 1988).
- Control de insectos (Kader, 1985b).

Además de estos efectos beneficiosos derivados de la modificación de los niveles de O₂, CO₂ y vapor de agua en el interior del envase, existen otros imputables a la presencia del polímero en el sistema de envasado y otros beneficios a nivel del productor que, esquemáticamente, se mencionan en los siguientes puntos:

- Reducción de los daños superficiales debido a la supresión de contacto entre el producto y el material del envase de transporte (Hardenburg, 1971; Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996).
- Mejora de la seguridad sanitaria, reduciendo el riesgo de contaminación de los productos durante la comercialización y distribución (Hardenburg, 1971; Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996) y, consecuentemente, disminución de las pérdidas económicas (Wolfe, 1980; Lioutas, 1988; Pala y Damarli, 1994).
- Eliminación total o parcial de los efectos negativos de la acción de la luz (Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996).
- Disminución de la propagación de enfermedades microbianas entre envases debido a la barrera física que supone el film (Zagory y Kader, 1988; Frutos, 1993; Romojaro *et al.*, 1996).
- Facilidad de identificación y expansión de la marca (Lioutas, 1988; Zagory y Kader, 1988; Romojaro *et al.*, 1996; Zagory, 1997).
- Mejora de la calidad visual con o sin envase (Tomkins, 1967; Zagory y Kader, 1988; Frutos, 1993; Pala y Damarli, 1994; Romojaro *et al.*, 1996; Zagory, 1997) que se traduce en una mejora de la calidad general para el consumidor (Lioutas, 1988; Artés, 2006).
- Reducción de las pérdidas durante la comercialización (Lioutas, 1988; Pala y Damarli, 1994).
- Opciones de producción semicentralizada (Lioutas, 1988; Pala y Damarli, 1994).
- Expandir el radio de los sistemas de distribución (Lioutas, 1988; Pala y Damarli, 1994).
- Reducción del trabajo y de las pérdidas en las ventas al por menor (Lioutas, 1988).
- Progresivo reparto de la mercancía en buenas condiciones de calidad (Tomkins, 1967).

Rodríguez (1994) mencionó las mejoras que supone la técnica EAP definida anteriormente. Éstas son:

- Se retardan los procesos de maduración y envejecimiento por disminución de la intensidad respiratoria y producción de etileno.
- Se llega a triplicar la vida comercial permitiendo la oferta de productos durante todo el año.
- Se conserva la firmeza del producto facilitando la manipulación.

- Se mantienen las cualidades organolépticas y nutritivas, ya que las pérdidas de acidez, azúcares y vitaminas son menores.

Sainsbury (1961), reportó los siguientes efectos derivados de la utilización del EAM que deben ser considerados a la hora del manejo de los productos:

- Velocidad de enfriamiento durante el período de reducción de la temperatura del producto desde la recolección hasta la conservación.
- Eliminación del calor de respiración.
- Minimización de las pérdidas de humedad en los productos conservados.
- Creación de una atmósfera especial para el producto dentro del envase.

Sin embargo, antes de considerar estos beneficios, es necesario realizar un estudio de comercialización que considere la aceptación de la tecnología por parte del consumidor; que establezca el verdadero valor del límite del término “fresco”; que analice los beneficios frente a los costes; que asegure que todos los beneficios de la técnica son transferidos al consumidor (valor añadido del producto) y que se investigue el estado de un producto particular.

Desde los años 1990 y tras varios estudios de comercialización, la empresa ARGÓN S.A., dedicada a la comercialización de polímeros plásticos para la alimentación con la técnica EAM mencionó y clasificó en su guía de aplicaciones EXTENDAPAK® de comercialización, las diferentes ventajas de la utilización de los polímeros plásticos de acuerdo con el envasador, distribuidor y consumidor. Éstas son:

■ Para el envasador:

- Mejor planificación de la producción.
- Reducción del uso de colorantes y conservantes.
- Diferentes alternativas de presentación.
- Creación de valor añadido.
- Sellado hermético: no se modifica la calidad del envasado durante la comercialización.

■ Para el distribuidor:

- Reducción de costes operativos al alargar las rutas.
- Mejor manipulación sin problemas de contaminación.
- Reducción del peso del envase.
- No requiere reenvasado posterior.
- Reducción en el personal de envasado.

■ Para el consumidor:

- Imagen de calidad y buen aspecto del producto.
- Satisface los deseos del consumidor al ofrecer productos frescos.
- Reducción de costes debido a la ausencia de degradaciones.

En definitiva, está asumido que el uso de las AM, dentro del rango de tolerancia aceptado para cada producto, permiten alargar los períodos de conservación y utilizar, durante el mismo, temperaturas más elevadas, pero el manejo y diseño debe ser cuidadoso debido a que la condensación de vapor de agua en el interior del envase tiene efectos muy negativos porque favorece el desarrollo de las comunidades microbianas.

2.6.6. Efectos negativos de las atmósferas modificadas

Los principales efectos perjudiciales de las malas prácticas en la utilización de las AM quedan perfectamente resumidas en el siguiente párrafo extraído de Romojaro *et al.* (1996):

<<La exposición de frutas y hortalizas a niveles de O₂ y CO₂ fuera de los límites de tolerancia de cada vegetal puede inducir anaerobiosis y otros desórdenes fisiológicos relacionados con maduraciones anormales en frutos climatéricos, pardeamientos internos y manchas o moteados marrón en la piel. Por otro lado, el exceso de humedad relativa que se puede formar en el interior del envase como consecuencia de la respiración del producto y la mayor o menor permeabilidad del polímero al vapor de agua, pueden favorecer el desarrollo de ciertas comunidades microbianas que pueden ser patógenas debido a la película de agua que se forma por condensación sobre la superficie interna del envase y del fruto>>.

Estos efectos no beneficiosos se pueden desglosar con el fin de conocer y evaluarlos. El listado general de efectos negativos de las AM obtenido de varios autores se presenta a continuación:

■ Sobre el producto:

- Iniciación o agravación de ciertos desórdenes fisiológicos cuando no se aplica de manera correcta (Lipton, 1975; Kader, 1985b; Zagory y Kader, 1988).
- Inducción de respiración anaerobia y como consecuencia, desarrollo de olores y sabores extraños por acumulación de etanol y acetaldehído (Kader, 1985b; Zagory y Kader, 1988; Risse, 1989).
- Posible aceleración de las podredumbres en general (Lipton, 1975; Risse, 1989).
- Maduración irregular de frutos como plátano, pera y tomate (O₂ < 2% y CO₂ > 5%. (Kader, 1985b), o impedimento de una maduración deseable (Lipton, 1975).
- Incremento de la susceptibilidad a las podredumbres cuando el producto es fisiológicamente dañado a muy bajos niveles de O₂ y/o muy elevados de CO₂. (Artés, 1974; Kader, 1985b).
- Estimulación de brotes y ralentización del desarrollo del peridermo en algunas raíces y tubérculos de patatas entre otros (Kader, 1985b).

■ Sobre la utilización de envase:

- Coste del envase y maquinaria de aplicación (Wolfe, 1980; Risse, 1989).
- Impermeabilidad de algunos polímeros a los pesticidas en caso de cosechar antes del período o plazo de seguridad (Risse, 1989).
- Requerimientos variables de cada producto (Wolfe, 1980).
- No todos los productos se ven beneficiados por la utilización de AM (Wolfe, 1980).
- Requerimientos de equipamiento y entrenamiento del personal (Wolfe, 1980).
- Mantenimiento de la atmósfera (Wolfe, 1980).
- Regulación necesaria de la temperatura (Wolfe, 1980).

2.6.7 Peligros microbiológicos en un sistema EAM

Las AM condicionan de diversa manera el crecimiento de microorganismos, incluido el de los patógenos. Esto tiene especial importancia en productos mínimamente procesados debido a que los jugos celulares salen al exterior de las células por las roturas o cortes constituyendo un caldo de cultivo (Nguyen-the y Carlin, 1994, citados por Gorris, 1998).

Las frutas frescas y hortalizas generalmente tienen una elaborada comunidad microbiana debido al intenso contacto con varios tipos de microorganismos durante el crecimiento en el cultivo y la manipulación poscosecha (Rose, 1990; Gorris y Peppelenbos, 1992). La elevada acidez de algunos frutos ($\text{pH} < 4,7$) limita el desarrollo microbiano en general. Las hortalizas, como la lechuga, generalmente tienen un pH de alrededor de 6,0 a 7,0 y, por tanto, no poseen esta protección. Las heridas y daños en general sobre los tejidos facilitan la penetración de microorganismos. La ausencia de estos defectos posibilita también el desarrollo de microorganismos que penetran por la piel y que precisan de enzimas específicos. Por ejemplo, en hortalizas se precisan enzimas pectinolíticos de bacterias Gram-negativas de los géneros *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*. La refrigeración es el mejor mecanismo para retardar el desarrollo microbiano, unido a las condiciones gaseosas de la técnica EAM (Gorris y Peppelenbos, 1992; Artés y Martínez, 1996, Allende y Artés, 2003).

La reducción excesiva del O_2 en el interior de los envases puede permitir proliferar bacterias anaerobias o anaerobias facultativas donde se encuentran encuadradas la mayor parte de las bacterias patógenas humanas transmitidas por los alimentos, como son: *Aeromonas hydrophilla*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* o *Yersinia enterocolitica* (Adams y Moss, 1995). También merecen especial atención *Listeria monocytogenes* que puede crecer sobre la lechuga (Adams y Moss, 1995, Allende *et al.*, 2002, e incluso otras especies de *Aeromonas*, como *A. caviae*, en ensaladas mínimamente procesadas (Allende *et al.*, 2002).

2.6.8. Futuro de la técnica EAM

En primer lugar, la utilización como envase de los polímeros plásticos debe hacerse de acuerdo a las necesidades del producto, por lo que el modelado puede facilitar enormemente la selección y forma de aplicación de un determinado envase antes de probar su aplicabilidad con diseños de experimentos empíricos y complejos. El modelo no sería necesariamente un sustituto de la realidad, pero simplificaría enormemente la búsqueda y selección de polímeros plásticos y lograría obtener el diseño del envase más adecuado para la conservación de un determinado producto.

Como se ha dicho anteriormente, la técnica EAM es una de las principales emergentes dentro de la alimentación que cumple dos funciones principales: por un lado, extiende el potencial de conservación de los alimentos y, por otro, retiene la calidad (O'Beirne, 1987). Si bien, existe otra función estrictamente comercial: la mejora de la presentación del producto o, lo que es lo mismo, la potenciación de la calidad visual a través de una política comercial adecuada. Es por todo ello por lo que se considera una tecnología con presente y con grandes perspectivas de futuro científico y comercial.

Para Gorny y Gil (1997), las películas laminadas o multicapa controlan mejor la velocidad de transmisión de O₂ y permiten una mejor calidad de impresión. Por otro lado, las películas coextrusionadas, en la que durante su fabricación numerosas láminas se producen simultáneamente y el plástico caliente se funde conjuntamente uniendo sus superficies sin necesidad de adhesivo, son bastante adecuadas y utilizadas en la actualidad (Díaz *et al.*, 2001). La mayoría de las películas laminadas pueden usarse sólo con productos de baja o media actividad respiratoria con el fin de evitar condiciones anaerobias.

Otra de las novedades en el envasado de productos con actividad respiratoria alta es el uso de películas microperforadas con agujeros entre 40 y 200 µm de diámetro que atraviesan la película. Estas películas permiten el desarrollo de un ambiente con concentraciones elevadas de CO₂ y vapor de agua, mientras que mantienen niveles moderados de O₂ (Gorny y Gil, 1997).

En la actualidad, además de los polímeros sintéticos, se están buscando también alternativas más ecológicas y saludables. Una de estas es el uso de polímeros biodegradables y biodesintegrables. La degradación de estos materiales consiste en el ataque microbiano al almidón inducido por enzimas. Este proceso provoca el incremento del área del polímero sintético que se halla en contacto con la atmósfera circundante. Se postula que esto estimula la degradación química profunda (autooxidación) de la fase sintética. De esta manera, polímeros sintéticos como el polietileno pueden ser elaborados incorporando almidón por procedimientos especiales, dando lugar a un polímero biodesintegrable especial llamado Ecostar (Chaves *et al.*, 1998).

La incorporación de aditivos con diversos fines a los polímeros no tiene fronteras, pues se abre un intenso campo de investigación sobre el tema. El único impedimento puede estar en las migraciones y posible toxicidad a los alimentos. Por mencionar uno de los numerosos ejemplos, Weng y Chen (1997) utilizaron óxido sórbico incorporado al polietileno como un aditivo antimicótico para dar lugar a los

polímeros llamados antimicóticos. La aplicación de aditivos obedece a numerosos objetivos, cabe destacar los mencionados por Díaz *et al.*, (2001):

- Facilitar o posibilitar el proceso de transformación: plastificantes, lubricantes, ayudantes de procesado, agentes de deslizamiento, antibloqueo, de expulsión, etc.
- Mejorar la combinación de componentes: compatibilizadores, agentes de acoplamiento, de curado, etc.
- Aumentar la resistencia a la degradación durante el proceso de transformación o la aplicación: estabilizadores térmicos, estabilizadores frente a la luz, etc.
- Mejorar las propiedades mecánicas: cargas minerales, refuerzos, modificadores de impacto, etc.
- Modificar la apariencia del producto: pigmentos, colorantes, agentes nucleantes, etc.
- Mejorar el comportamiento del producto final: biocidas, agentes antigoteo, antiniebla, antiestáticos, para retardar la llama, para suprimir el humo, etc.

Las películas inteligentes forman una clase nueva de membranas, las cuales crean una AM dentro del mismo y aseguran que el producto no consuma todo el O₂, incluso cuando las temperaturas se incrementan considerablemente (Gorny y Gil, 1997). Por ejemplo, las denominadas comercialmente Intermiller® están formadas por cadenas poliméricas de alcoholes grasos de cadena larga, que tienen una estructura cristalina por debajo de la temperatura límite, pero por encima de ésta, las cadenas poliméricas laterales se convierten reversiblemente en una estructura amorfa, la cual incrementa tremendamente la permeabilidad a los gases.

Los envases inteligentes incluyen indicadores de temperatura, de tiempo-temperatura, microondas, gas y de crecimiento de microorganismos. Todo ello encaminado para esclarecer las posibles malas condiciones de conservación y frescor que halla tenido el producto dentro del envase (Day, 1994).

Los envases activos consisten en la incorporación de ciertos aditivos en el polímero o dentro de él con el objetivo de aumentar la calidad y/o extender el potencial de conservación. Tales aditivos llamados mejoradores del frescor (“*freshness enhancers*”) son capaces de absorber O₂, emitir o absorber CO₂, emitir o absorber volátiles en general o absorber humedad manteniendo la temperatura (Day, 1994).

Otras innovaciones la constituyen los polímeros que contienen en su estructura absorbedores de etileno o de CO₂. Uno de estos ejemplos es el “*Peak FreshR*”, el cual absorbe C₂H₄ sin necesidad de incorporar saquitos de absorbentes que deterioran la calidad visual general del producto.

Otros polímeros van más allá y cambian la permeabilidad de acuerdo con la temperatura porque admiten recristalizaciones. Son los llamados compensadores de

temperatura (“*temperature-compensating*”), una clase de polímeros inteligentes. Pueden ser ideales para casos en que las fluctuaciones de temperatura de conservación sean inevitables y no se desee que afecten a la ruptura de la atmósfera de equilibrio y, por tanto, hacer frente a uno de los mayores problemas que ocurren en la técnica EAM en detrimento de la calidad (Stewart *et al.*, 1993).

Otra innovación la constituye los llamados cócteles de gases en los cuales forman parte otros gases inertes distintos al N₂, como los gases nobles (Brody, 1996; Gorny y Gil, 1997). Recientemente AIR LIQUIDE ESPAÑA S.A. ha patentado uno de estos cócteles a partir de argón que según afirman, retarda la respiración y varias reacciones de degradación en el producto, proceso que no está muy estudiado científicamente.

Los bioenvases consisten en capas protectoras que se realizan de polímeros naturales obtenidos de plantas (Gorris y Bochereau, 1998). La habilidad de los bioenvases para modificar las condiciones gaseosas los hace particularmente apropiados para frutas y hortalizas frescas que tienen un metabolismo activo conservadas a bajas temperaturas y continúan respirando. Gracias a este biosistema, los agentes antimicrobianos y antioxidantes usados para proteger a los alimentos pueden ser incorporados también al propio envase y preservar el carácter natural del producto. Su aplicabilidad se estudia a pesar de todos los problemas que esta tecnología pueda tener en muchos mercados contrarios a tales productos en contacto con los alimentos (Gorny y Gil, 1997).

Un grupo de polímeros que más llaman la atención son los comestibles que se realizan de sustancias naturales. Estos envuelven a los alimentos y tienen las mismas funciones de un envase sintético. La mayor particularidad es que pueden ser comidos con el propio alimento y mientras tanto mantienen su función de protección y modificación de la atmósfera pudiéndose considerar como técnica EAM (Torres, 1996; Gorris y Bochereau, 1998).

También se puede aplicar irradiación a los envases en general para prevenir el desarrollo de microorganismos (O’Beirne, 1987).

Otros aspectos novedosos descritos por Labuza (1996) son: barreras de humedad comestibles para prevenir pérdida de humedad, barreras de O₂ comestibles para prevenir pardeamiento enzimático, absorbedores de etileno en general (“*scavenger*”) para retrasar la senescencia, “*scavenger*” de O₂ para ralentizar el metabolismo, polímeros con zeolita para inactivar el desarrollo microbiano, polímeros que irradian infrarrojos para inactivar microorganismos, pequeñas bolsas o polímeros impregnados que transmiten inhibidores microbianos tales como etanol o sorbato y polímeros que retienen olores extraños.

Otros tipos de polímeros activos incluyen los “*microwave susceptor*”, film para crear condiciones de elevado calor para su uso, por ejemplo, en palomitas de maíz. Los “*Microwave doneness indicators, steam-release films*”, indicadores de temperaturas extremas para saber si el producto ha estado, en algún momento, almacenado a una temperatura alta inadecuada, y los indicadores de temperatura-tiempo para poner de manifiesto las pérdidas de vida comercial durante comercialización (Labuza, 1996).

Gorris (1998), señaló y clasificó todas las innovaciones relacionadas con el uso tradicional de las AM. Éstas son:

■ Envasado

- Considerar permeabilidad/selectividad (nuevos plásticos, microperforación).
- Permeabilidad al vapor de agua/selectividad (MHS-“*Modified Humidity Storage*”).
- Biodegradabilidad-entorno (plásticos laminados) fortalecidos con masas biodegradables.
- Composición (metal/cartón) con plásticos.
- Nuevos conceptos (alto contenido en oxígeno, gases nobles, optimización).
- Optimización en cadena (control básico, enfriamiento, manipulación, logística).

■ Envasado activo

- Absorbedores (O₂, C₂H₄, agua, sabores y olores extraños).
- Generadores (CO₂, antifúngicos, sabores y olores).
- Emisión de sustancias controladas (antimicrobianas-oxidantes).

■ Envasado dinámico

- Polímeros dinámicos con la temperatura.
- Polímeros dinámicos con la humedad.

■ Bioenvasado (“*biopackaging*”)

- Envases biodegradables o comestibles.
- Propiedades físicas variables según requerimiento.

■ Bioenvolventes (“*biocoatings*”)

- Comestibles, protección física (invisible).
- Características funcionales (agentes antimicrobianos).

■ Envasado mínimo

- Funciones integradas.
- Láminas plásticas simples y reciclables.

Los programas en los que se ha venido desarrollando la investigación sobre EAM han tenido en cuenta los aspectos propuestos por Zagory y Kader (1989):

- El efecto de AC/AM sobre parámetros de calidad; más que evaluar la supervivencia comercial únicamente sobre la base del aspecto (calidad visual). Se debería poner más atención a los efectos sobre la textura, sabor, aroma y calidad nutricional.

- La necesidad de determinar la probabilidad de que los patógenos humanos, particularmente los anaerobios productores de toxinas, puedan crecer y producir toxinas dentro de los envases antes de que otros microorganismos inofensivos puedan alterar el producto.
- Los efectos sobre la fisiología y deterioro de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas y el uso potencial de las condiciones AC/AM para su preservación.
- Esforzarse en desarrollar modelos matemáticos que puedan ser usados de manera satisfactoria para seleccionar el mejor envase plástico con el fin de crear y mantener condiciones óptimas de atmósferas modificadas para cada producto.
- Dilucidar el modo de acción de la reducción del O₂ y la elevación del CO₂ con los cambios en la composición química del producto.

Más recientemente, Gorris, en 1998, mencionó otros puntos necesarios para seguir investigando en la técnica EAM:

- El acercamiento sistemático a la selección de las condiciones gaseosas apropiadas para cada producto específico.
- Más datos sobre la interacción entre productos y composiciones gaseosas.
- Desarrollo de programas de ordenador con el objetivo de seleccionar sistemas de envasado (composición gaseosa y humedad).
- Combatir los peligros microbiológicos en los sistemas EAM utilizando procesos combinados. Todos los artículos publicados sobre AM coinciden en hacer ver la cantidad de grandes beneficios que se pueden obtener del uso de esta técnica, especialmente en el incremento del potencial de conservación, pero sólo una parte de ellos estudia la calidad microbiológica necesaria para la perfecta implantación de la técnica. Esta afirmación fue también contrastada por Lioutas (1988).
- Estudios adicionales sobre nuevos desarrollos de la metodología EAM.
- Minimizar el envase en los sistemas EAM (incluyendo biorecubrimientos como una parte del concepto del envase).

Otras necesidades de la técnica EAM eran, de acuerdo con Kader, (1990a):

- Reducir de pérdidas desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo debido a daños por frío en los productos que presentan esta sensibilidad.
- Desarrollar métodos efectivos y económicos para controlar y monitorizar la temperatura y HR en los ambientes de conservación.

- Continuar los esfuerzos para desarrollar la AC o AM para su utilización durante el tránsito, conservación y comercialización de los productos que se benefician de ellas, por lo que se deben de considerar los siguientes objetivos:
 - ◄ Mejorar los sistemas para generar, mantener y monitorizar las atmósferas deseadas.
 - ◄ Una eliminación más efectiva del etileno y de otros compuestos volátiles.
 - ◄ Mejorar los procedimientos de seguridad para expandir el uso del CO como gas fungistático en los productos en los que el CO₂ es dañino.
 - ◄ Innovaciones encaminadas a facilitar la utilización de las AM durante el transporte y la distribución.
- Estudiar los efectos de las condiciones de almacenamiento sobre la supervivencia comercial basados en la textura, sabor y aroma más que en la apariencia visual (calidad visual).
- Dilucidar el modo de acción de las bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂ sobre el metabolismo respiratorio; biosíntesis y acción del etileno, pardeamiento enzimático, metabolismo de la pared celular, síntesis de volátiles y otros cambios en la composición.
- Entender las razones (anatómicas, fisiológicas, y/o bioquímicas) por diferencias genotípicas en la tolerancia de elevadas concentraciones de CO₂ y bajas de O₂.
- Utilización de AC/AM para permitir recolectar y comercializar frutos más maduros (con mejor calidad de sabor y aroma).
- Utilización de AC/AM para evitar o reducir la exposición de productos sensibles al frío a temperaturas bajas dañinas.
- Utilización de AC/AM para la preservación de productos mínimamente procesados.
- Desarrollar un modelo matemático que pueda ser utilizado satisfactoriamente para seleccionar el mejor envase para la creación y mantenimiento de óptimas condiciones de modificación de la atmósfera para cada producto.

2.7. CALIDAD DE LA LECHUGA Y DESÓRDENES QUE APARECEN DURANTE SU CONSERVACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN

2.7.1. Conservación de la lechuga

2.7.1.1. Almacenamiento convencional

La lechuga es una hortaliza de hoja bastante perecedera, por lo que requiere unas labores poscosecha cuidadosas en las que debe concursar la refrigeración. A 20°C, la duración de vida comercial es de un día (Namesny, 1993). De ahí que en necesarios períodos de conservación, tradicionalmente siempre se aplicara esta técnica. De hecho, a 0°C la duración comercial se ha estimado en 12 días (Namesny, 1993).

Es imprescindible conservar las hortalizas por encima del punto de congelación, ya que se ha constatado que un incremento de solo un grado centígrado puede inducir cambios metabólicos considerables. Incluso, sea cual sean las condiciones de almacenamiento, en la lechuga se produce siempre una acumulación de compuestos fenólicos, actividad enzimática y de aminoácidos al término de un período de conservación que puede provocar alteraciones con cierta facilidad (Leja y Mareczek, 1995).

En un almacenamiento comercial normal es imposible mantener la temperatura constante, por lo menos existe una ligera fluctuación en un rango alrededor de la temperatura fijada. Además, se debe considerar que el mantenimiento de una temperatura lo más constante posible exige un mayor coste. Por tanto, la conservación justo por encima de la temperatura de congelación no es siempre segura, por lo que se debe procurar una temperatura ligeramente mayor. En la lechuga es norma comercial común la utilización de 2°C que, por un lado, no tiene riesgos de congelación, y por otro, su mantenimiento es menos costoso que 0°C. Además, para el tiempo de conservación de 1 a 2 semanas, como mucho, la consideran una temperatura aceptable (comunicaciones personales de las cooperativas hortícolas de Murcia). Adicionalmente, la temperatura de los camiones frigoríficos utilizados para la exportación de la lechuga se fija en 2°C comúnmente. Sin embargo, naturalmente consideramos que 0°C es la óptima para la lechuga y la que se debe preferir en todo momento.

La lechuga es un producto altamente perecedero en relación con otras hortalizas y frutos (Morris *et al.*, 1974; Hanson, 1975; Namesny, 1993; Kim y Wills, 1995). El factor más importante que afecta a la calidad de la lechuga es la temperatura de conservación, óptima en torno a los 0°C (Pratt *et al.*, 1954, citado por Aharoni y Ben Yehoshua, 1973), que debe alcanzarse lo antes posible con la utilización del preenfriamiento por vacío (Aharoni y Ben Yehoshua, 1973). El deterioro de la lechuga puede afectar hasta un 18% de pérdidas totales durante el tránsito si la temperatura llega a 10°C durante 10 días. De otra manera, el deterioro puede reducirse en un 8% si la temperatura se mantiene a 0°C durante 8 días (Salunkhe y Desai, 1984). Para Kim y Wills (1995), el período de almacenamiento máximo normal de la lechuga es de 1 a 3 semanas a 0°C, pero es considerablemente menor a mayores temperaturas. Namesny (1993), considera que, en términos generales, la vida poscosecha de la lechuga conservada entre 0 y 2°C es del orden de 15 a 20 días. Durante este período sobrevienen

una serie de cambios asociados a la senescencia del producto, entre los cuales se encuentran: marchitamiento, amarilleamiento, pardeamiento del corte, posibles daños por congelación, alteraciones microbiológicas y alteraciones fisiológicas. Lipton y Ryder (1989), afirmaron que aunque las condiciones ideales de conservación de la lechuga son 0°C y 98 a 100% HR, éstas no se suelen cumplir, por lo tanto, no se debe tener más de una semana antes de su consumo en vistas de minimizar la pérdida de calidad. La recomendación de temperatura de conservación para Ryall y Lipton (1979) es 1±1°C, pero el preenfriamiento es esencial porque los vehículos de transporte refrigerado están diseñados para el mantenimiento de la temperatura, no para su reducción. En partidas donde la podredumbre o alteraciones fisiológicas tales como la mancha canela o “*russet spotting*” son problemas potenciales, la lechuga se preenfriaba hasta 1°C y, de esta manera, presenta menos podredumbres, mancha canela y nervaduras rosáceas que la lechuga preenfriada a 3°C. Algunos de los peligros de un preenfriamiento inapropiado puede ser el aumento de nervaduras rosáceas. Para Hanson (1975), el período máximo de almacenamiento corresponde a 2 ó 3 semanas a 0°C, afirmación que coincide con la de Ryall y Lipton (1979) que afirmaron que puede ser conservada durante 3 a 4 semanas a 0°C si se parte de buena calidad de producto. Ellos recomendaron también el preenfriamiento a 1°C y una HR del 95%.

Tabla 2-2. Condiciones idóneas de la conservación de la lechuga según varios investigadores (adaptado de Namesny, 1993).

Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Duración	Atmósfera controlada	Observaciones	Fuente
0	95-98	15 a 30 días	-		Tonini y Cesari (1969)
0	95	2 a 3 semanas	-		Lutz y Hardenburg (1968)
0	95	2 a 3 semanas	-	Preenfriamiento por vacío	Mitchell <i>et al.</i> (1972)
0	90-95	3 semanas	-	Tipo Romana	Pantastico (1975)
0-1	≥95	2 a 3 semanas	-	Tipo Iceberg. Preenfriamiento bajo vacío	IIF (1979)
0,5-1	90-95	3 a 4 semanas	-	Tipo Romana. Preenfriamiento bajo vacío	“
0	95	1 a 3 semanas	-	Tipo arpeolladas. Aplicando hielo	“
0	95	6 a 8 semanas	-	Almacenamiento hipobárico a 10 mm de Hg	Mermelstein (1979)
0	90-95	1 a 3 semanas	-		Holdsworth (1983)
0	95	1 a 3 semanas	1 a 2% O ₂ 0 a 2% CO ₂	Se aconseja prerrefrigeración y protección con plástico	Moras y Chapon (1983)
0	95	2 a 3 semanas	-		Shapiro (1985)
0	No especifica	40 a 45 días	1 a 5% O ₂ 1% CO ₂		Tesi (1987)
0	90-95	10 a 15 días	2 a 5% O ₂ 2 a 3% CO ₂		“

En la correcta conservación de la lechuga, se requiere una refrigeración rápida debido a su carácter perecedero comentado anteriormente. Namesny (1993), realizó una recopilación de temperaturas y HR favorables para el almacenamiento de la lechuga (Tabla 2-2). En ella la temperatura así como la HR óptima de conservación de la lechuga, como se está comentando, está comprendida entre 0 y 1°C y 95%. No obstante, las condiciones termohigrométricas de conservación están en relación con el período de conservación (Namesny, 1993), es decir, en períodos más cortos de conservación y una relativamente alta temperatura de almacenamiento, se obtiene una calidad final semejante a utilizar una baja temperatura de almacenamiento durante un tiempo superior.

En contraposición al carácter perecedero de la lechuga, Thorne y Meffert (1979), modelaron el potencial de conservación de una gran cantidad de frutas y hortalizas, entre ellas la lechuga, en función del potencial de conservación a 0°C y de la medida del efecto de las condiciones variables de temperatura sobre la duración comercial. De acuerdo con esto, curiosamente clasificaron a la lechuga Iceberg dentro del grupo 4 de larga conservación (“*long storage*”), junto con las naranjas, patatas, manzanas, col y cebolla. Sin embargo, clasificaron a otras variedades de lechuga dentro del grupo 2 o de “*half hardy*”. Esto se podría interpretar como que la lechuga Iceberg aguanta bastante bien las condiciones variables de temperatura.

Como se ha descrito, realmente cada autor ha propuesto unas condiciones termométricas particulares, por lo que se pone de manifiesto la alta cantidad de variables que pueden influir en la conservación de la lechuga. No obstante, existe consenso en que la temperatura de conservación debe ser lo más baja posible, próxima a los 0°C.

2.7.1.2. Almacenamiento en atmósfera modificada

Debido a que la lechuga incrementa su valor añadido alrededor de 10 veces entre el campo y el consumo, es lógico pensar que las pérdidas por alteraciones son muy costosas (Morris *et al.*, 1974). Por tanto, hay que buscar tratamientos coadyuvantes a la refrigeración que permitan preservar su calidad durante los períodos necesarios.

Con la llegada de los plásticos en los años 1930, algunos investigadores desarrollaron estudios de conservación de productos hortofrutícolas alojados en bolsas de plástico. Durante las décadas de 1950 y 60 abundaron estos estudios donde se ponen de manifiesto las mejoras producidas sobre la refrigeración exclusiva convencional. Los primeros estudios de envasado de lechuga en AM datan de los años 1960, realizados por investigadores norteamericanos (Risse, 1989).

Salunkhe y Desai (1984), revisaron los efectos de la modificación de la atmósfera en la conservación de la lechuga. Las conclusiones fueron que durante 20 días de conservación a 1,6°C, la modificación de la atmósfera no se tradujo en beneficios sobre el testigo en aire, mientras que al término de 40 días en las mismas condiciones, la mejor atmósfera fue la de 2,5% O₂ + 2,5% CO₂, mejor que el testigo de aire.

En las cabezas intactas de lechuga la utilización de la modificación de la atmósfera es crítica, ya que la frontera entre una atmósfera favorable y otra desfavorable

puede ser escasa y poco perceptible. Por ello, se deben dar recomendaciones para el desarrollo de variedades que se beneficien claramente de la utilización de las AC o AM. Éstas son fundamentalmente:

- Susceptibilidad al O₂ y CO₂.
- Respuesta a la temperatura de conservación.
- Condiciones culturales y de la estación de crecimiento.

La lechuga Iceberg es muy susceptible a los daños ocasionados por CO₂, que puede acumularse en exceso con la utilización de envases relativamente poco permeables. Esta acumulación de excesivo CO₂ dentro de envases sin perforar podría ser evitada por medio de un mantenimiento activo de la atmósfera. En 1963, Hardenburg utilizó lima hidratada (absorbedor de CO₂) para mantener en todo momento el CO₂ por debajo del 1% en lechuga conservada a 0°C. El mismo autor atribuyó de forma significativa una parte de CO₂ acumulado en los envases sin lima de lechuga conservadas durante 3 a 4 semanas a 10°C a la actividad de los microorganismos. La lima hidratada fue mencionada también con el mismo fin por Lypton y Ryder (1989).

La aplicación de las AM llegó posteriormente con el uso del PE (polietileno). La utilización de un envase de PE en la mejora de la conservación de la lechuga fue puesto de manifiesto por primera vez por Aharoni y Ben Yehoshua (1973), que obtuvieron los mejores resultados con una generación activa de la atmósfera introduciendo N₂ en el interior de las bolsas reduciendo, de este modo, el amarilleo y las podredumbres. De todas maneras, se debe tener en cuenta que la variedad Romana no es muy sensible al CO₂ (>12%). Por otro lado, Janick (1979a) destinó el PP para la conservación de lechuga mínimamente procesada en AM.

Las AM recomendadas para la conservación de la lechuga son del orden del 3 a 5% de O₂ y CO₂ por debajo del 1% (Salunkhe y Desai, 1984), pero la mejor combinación dada por los mismos autores para prolongar la supervivencia comercial fue curiosamente la de 2,5% O₂ + 2,5% CO₂. Esta misma atmósfera mantuvo el color verde brillante de las hojas.

Los efectos beneficiosos del EAM de la lechuga en la reducción de las pérdidas de peso, pardeamiento del corte de tallo y otros desórdenes fisiológicos han sido reconocidos desde el año 1960 (Parsons *et al.*, 1960; Harvey *et al.*, 1962; Chapogas *et al.*, 1964; Stewart *et al.*, 1967, todos ellos citados por Wang *et al.*, 1984). Todos estos autores llegaron a la conclusión de que la lechuga envuelta en PE después de 18 días a 3°C + 4 días a 10°C mantuvo mejor la calidad que otros tipos de polímeros como son el PP o el poliestireno.

Unas de las maneras de conseguir espacios de cabeza reducidos en O₂ y con un ligero aumento de CO₂ es con la modificación activa de la atmósfera inyectando N₂ con el fin de desplazar, en parte, al O₂ (generación activa o abiológica de la atmósfera). Con este sistema también se han reportado beneficios en la conservación de la lechuga. De este modo, Parsons *et al.* (1964), en unos experimentos de conservación de la lechuga en ambientes extremadamente ricos en N₂, llegaron a la conclusión de que el sabor, color y mantenimiento de la calidad no fueron dañados cuando la lechuga se conservó en atmósfera conteniendo 99% e incluso el 100% de N₂ durante 10 días a 0,5°C. Después de 40 horas del 100% N₂, el corte de tallo permaneció sin ningún síntoma de

oxidación, mientras que el que contenía 99% N₂ durante 4 días a la temperatura mencionada sí estaba oxidado. No obstante, después de transferir al aire las lechugas, se desarrollaron malos olores, pero el tratamiento evitó la incidencia de RS (mancha canela).

Para Brecht *et al.* (1996) la envoltura o envasado de la lechuga en polímeros plásticos transparentes se inició probablemente para evitar el marchitamiento de la lechuga, más que para obtener beneficios de la AM en lo que se refiere a la variación del O₂ y del CO₂. De hecho, Lipton y Ryder (1989), fueron más allá especificando que la envoltura de la lechuga debe ser en un polímero plástico suficientemente ventilado para permitir escapar al aire y la humedad durante el preenfriamiento bajo vacío. Por otro lado, los supermercados cada vez demandan más vegetales envasados principalmente como sinónimo de higiene y calidad. Inicialmente la industria de lechugas en Florida (EE.UU.) utilizó PVC (policloruro de vinilo) para tal efecto más que PE o PP debido, simplemente, a que la lechuga quedaba de esta forma más atractiva a la vista. Sin embargo, los problemas en lograr un sellado perfecto contribuían a reducir la calidad visual. Además, los polímeros utilizados para envolver la lechuga fueron en la mayoría de los casos desarrollados para su utilización en carnes. De esta manera, los problemas de calidad debidos a la inadecuada permeabilidad a los gases metabólicos y otros factores llegaron a ser significativos, especialmente durante períodos de conservación relativamente largos y, después, durante la comercialización. De cualquier manera, los beneficios del envasado adecuado de la lechuga son evidentes respecto a la lechuga sin envasar en los siguientes aspectos:

- Reducción del “*bulge pack*”, término que destaca el mantenimiento de la lechuga más recogida en el interior del envase, evitando plástico saliente y sobrante de lo que es el cuerpo del cogollo.
- Reducción de la incidencia de podredumbres.
- Reducción significativa de las pérdidas de peso.
- Reducción de los daños por abrasión.

Para Vidal *et al.* (1995), la aptitud para la conservación de la lechuga en AM depende de la variedad y del ambiente. Para estos autores, que pretendían confirmar la hipótesis de que un alto contenido en azúcares es fundamental para una conservación prolongada, descubrieron que esto era cierto para algunas variedades, pero no para todas. En la mayoría parece más importante el contenido de materia insoluble en alcohol, relacionada a su vez con la materia seca y, además, se favoreció por un contenido alto en azúcares.

Lipton y Ryder (1989) afirmaron que, a veces, la lechuga es envuelta en plástico solamente en el punto de venta (supermercados). La ventaja de utilizar los envases plásticos que permiten su abertura y cerrado reside en que permite inspeccionar y desechar las hojas interiores que a veces están deterioradas, recuperando la calidad inicial. Una vez más, se pone de manifiesto que en su origen el envasado no estaba encaminado a conseguir la modificación de los gases metabólicos de la atmósfera de confinamiento.

2.7.1.3. Almacenamiento en atmósfera controlada

La técnica de AC se propuso en la comercialización de la lechuga para varios objetivos. Uno de ellos fue conservar la lechuga durante períodos de transporte marítimo de hasta 3 semanas. La calidad, en este caso, no solamente debe cubrir factores tales como marchitamiento, sabor y color, sino también suprimir o mitigar algunos desórdenes fisiológicos y microbiológicos. Se estableció una segunda propuesta encaminada a conservaciones de 4 a 6 semanas. La tercera propuesta fue estudiada para el mantenimiento de la calidad de la lechuga mínimamente procesada (Janick, 1979a). No obstante, hay que tener en cuenta que la utilización de AM o AC en la lechuga puede entrañar tanto beneficios como peligros para este producto (Lypton y Ryder, 1989) que serán analizados en el presente Capítulo.

En los primeros transportes marítimos de las lechugas, las elevadas concentraciones de CO₂ sirvieron para controlar la alteración de las nervaduras rosáceas (PR), pero al mismo tiempo provocaban pardeamientos (BNS – mancha parda y HLI – daño del cogollo interior). Se puso de manifiesto que una combinación gaseosa totalmente dañina para la mayoría de variedades ensayadas era 10% CO₂ + 2% O₂ a 2,5°C (Janick, 1979a). La combinación gaseosa que menos daño causó en la mayoría de variedades fue 5% CO₂ + 2% O₂ a 2,5°C, de acuerdo con los mismos autores. Estas dificultades de aplicación de AC quedó superada cuando se utilizó 2,5% CO₂ + 2,5% O₂ a 1,7°C para tiempos largos de conservación, que mantuvo la calidad y el color verde de las hojas brillante. En este tipo de atmósfera, la lechuga pudo ser conservada durante más de 40 días (Janick, 1979a). Durante un mes, o período superior de conservación de la lechuga, la atmósfera óptima fue 2% CO₂ + 3% O₂ (Ryall y Lipton, 1979).

2.7.1.4. Almacenamiento en expositores de supermercado

La supervivencia comercial en los supermercados fue primeramente estudiada por Lewis, (1957). Del estudio se publicó un manual comercial del “*Agriculture Handbook*” perteneciente al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en el cual se detalló la supervivencia comercial de frutas y hortalizas, entre ellas la lechuga, en los expositores de los supermercados de este país. En este manual se especificaron las recomendaciones para la conservación de la lechuga durante el poco tiempo que debe permanecer en un expositor de supermercado. La temperatura más deseable, para ello, lógicamente, es la óptima de conservación comprendida entre 0 y 2°C, pero mantener esta temperatura en un expositor no ha sido hasta el momento, por las causas que sean, una práctica habitual en ningún supermercado. La lechuga a vender se puede exponer también a 12,7–15,5°C durante dos días como mucho. Si se expone a 18,3–23,8°C, se tiene un alto riesgo de producirle un rápido envejecimiento y desarrollo de podredumbres. En esta misma hoja de divulgación, se recomienda la envoltura de la lechuga en polímeros plásticos para prevenir las pérdidas de peso y se recomienda a los clientes que eliminen las hojas exteriores del cogollo.

2.7.2. Parámetros de calidad de la lechuga

Por el término calidad, un concepto subjetivo y variable (Berger, 1998), se entiende cualquier característica que hace que un objeto sea lo que realmente es o,

también, un concepto que especifica el grado de riqueza o superioridad de ese objeto (Kader, 1985b). Kramer y Twigg (1962), citados por Hardh (1974), definieron la calidad como la composición de las características que diferencian unidades individuales de un producto y tienen significación en determinar el grado de aceptabilidad de una unidad por el consumidor. Hardh (1974), hizo hincapié en el diferente punto de vista de la calidad al tratarse de un productor, distribuidor o un consumidor. De acuerdo con esto, la subjetividad de este concepto es evidente cuando la calidad del mismo producto es valorada de diferente manera a lo largo de la cadena de producción y comercialización.

Para Kader (1985b), la palabra calidad, haciendo referencia a las frutas y hortalizas frescas, se usa de muchas maneras en relación con los atributos que se miden. Así surgen los términos: calidad comercial (“*market quality*”), calidad organoléptica (“*edible quality*”), calidad gustativa o palatabilidad (“*dessert quality*”), calidad para el transporte (“*shipping quality*”), calidad para la mesa (“*table quality*”), calidad nutritiva (“*nutritional quality*”), calidad interna (“*internal quality*”), y calidad visual (“*appearance quality*”). Si bien, el mismo autor simplificó los tipos de calidad en los diferentes grupos: comercial, organoléptica, nutricional, interna y visual.

La calidad es un concepto relativo que depende del consumidor (Pretel *et al.*, 1993). Kays (1991), dividió a los componentes de la calidad en dos grandes grupos: atributos nutricionales y atributos sensoriales. Los nutricionales se aplican a productos de plantas que van a ser consumidos, mientras que el criterio sensorial hace referencia a atributos tales como aspecto, textura, aroma y sabor. Para este autor, el término calidad debe ser entendido como el valor relativo de varias características consideradas juntas, pero no todas ellas contribuyen con igual proporción al término general de calidad.

La calidad nunca puede mejorar después de la cosecha, siempre declina. Por ello, todos los esfuerzos deben ir encaminados a ralentizarlos en la medida disponible (Lipton y Ryder, 1989). Puesto que los vegetales deben de comercializarse con un alto grado de calidad (Ryder, 1979a), y no se puede mejorar durante la conservación, se requiere entonces cosechar productos en su más alto grado de calidad.

Las dos características de calidad más consideradas en la lechuga son las relacionadas con la salud y el aspecto de las piezas, cabezas o cogollos (Lipton y Ryder, 1989). Una lechuga dotada de alta calidad debe ser crujiente, verde y libre de defectos (Ryall y Lipton, 1979). Los nervios principales no deben estar en general ni dañados ni cortados, esto es un indicador de abusos durante la manipulación. Las cabezas que son muy duras o pesadas por su tamaño son indeseables porque se deterioran más rápidamente que las cabezas firmes. Por otro lado, el color del corte de tallo, alteración conocida como BD - “*butt discoloration*” o pardeamiento (oxidación) del corte del tallo, no es necesariamente un buen indicador de calidad, ya que la oxidación afecta de forma desigual a cada lechuga en idénticas condiciones y constituye un problema actual difícilmente superable, a pesar de los esfuerzos realizados para evitar la oxidación del tallo en cabezas intactas (Castañer *et al.*, 1995).

La parte interior de la lechuga (cogollo interior) debe de estar libre de defectos. Es normal un ligero amarilleo respecto a las hojas exteriores (Ryall y Lipton, 1979), debido a las pérdida de clorofila por ausencia de luz, que no puede llegar porque la oculta las hojas envolventes del cogollo.

Para obtener una cosecha de calidad excelente, punto de partida para lograr mantenerla durante la conservación, es necesario conocer los factores que la afectan durante el cultivo. Estos son, entre otros, (Ryder, 1979a): temperatura, humedad, estación del año, localización, producción de semillas, prácticas de crecimiento y las técnicas de manipulación y comercialización. En el presente estudio nos vamos a centrar en las técnicas encaminadas a la mejora de la conservación.

Tabla 2-3. Grados de madurez en las lechugas acogolladas (o arrepolladas). Adaptado de Kader (1985b), citados por Namesny (1993).

COMPACIDAD O SOLIDEZ	COMPORTAMIENTO POSCOSECHA
(1) Blanda, sin formación de cogollo	Más susceptible a daños físicos. Tasa de respiración mayor que la lechuga más madura. Inaceptable para el mercado
(2) Bastante firme, escasa formación de cogollo	Mayor tasa de respiración
(3) Firme, buena formación del cogollo. Densidad óptima (madurez)	Vida de almacenamiento máxima
(4) Dura, densidad máxima pero sin grietas en las nervaduras	Más susceptible a RS, PR y otras alteraciones fisiológicas. Menor vida de almacenamiento
(5) Muy dura, presencia frecuente de grietas en las nervaduras. Extrema presión interna	El remanente de vida de almacenamiento y en estante es mínimo debido al avanzado estado de madurez. Más difícil de realizar el preenfriamiento por vacío

Casi toda la orientación de programas de calidad de la lechuga se refieren a encontrar la resistencia a enfermedades y alteraciones en general, pero algunos autores centran su atención en el control de las enfermedades (Lipton y Ryder, 1989). El enfoque último es el investigado en el presente trabajo. Aquí sólo se hace hincapié en las alteraciones que ocurren en poscosecha, aunque pudieran tener su origen en el campo.

Los vendedores y consumidores están de acuerdo en que el aspecto visual-color, tamaño, turgencia y conformación de la cabeza, además de estar libre de defectos y alteraciones, constituyen los factores básicos de medida de la calidad en la lechuga (Morris *et al.*, 1974; Lipton y Ryder, 1989). Morris *et al.* (1974) consideraron que los cambios composicionales no son tan importantes en este producto, excepto la modificación de color y turgencia por la pérdida de agua por deshidratación. Sin embargo, aunque hace años las hortalizas se compraban fundamentalmente por su sabor y aspecto, no por su valor nutricional, ahora se tiene más conciencia social de que todos los vegetales constituyen una importante fuente de ciertas vitaminas y minerales. En la lechuga destaca la vitamina A (Watt *et al.*, 1975, citados por Maroto *et al.*, 2000; Lipton y Ryder, 1989). Sin embargo, la calidad o aspecto visual sigue siendo el factor más importante de compra o rechazo.

Para evaluar la calidad después de un tratamiento de conservación, se valoran los componentes de calidad en relación a unos parámetros o estándares ya establecidos. Cada fruta u hortaliza tiene unos componentes más indicadores que otros, por lo que se deben considerar primeramente los componentes más importantes para cada producto. De cualquier manera, el mismo concepto de calidad implica que ésta no se puede determinar por una única propiedad aislada, sino por una combinación de todas sus propiedades físicas, químicas y organolépticas. De este modo, los parámetros utilizados para medir la calidad en las hortalizas de consumo en fresco son: valor nutricional, color, textura, tamaño, forma, sabor + aroma (“*flavour*” o calidad organoléptica) y presencia de defectos (Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989). Particularmente en la lechuga se distinguen: desarrollo adecuado, color típico de la variedad, libre de marchitamiento, congelación, insectos, podredumbre y desórdenes en general (Kader, 1985b). Arthey (1975), citado por Ryder (1979a), propuso otro grupo o características de atributos de calidad que se pueden aplicar a las hortalizas frescas, incluida la lechuga. Éstas son:

- Valor nutricional.
- Color.
- Textura.
- Tamaño.
- Forma.
- Sabor y olor.
- Defectos.

Es conveniente tener en consideración la madurez o edad fisiológica, ya que influencia en gran medida la aparición de diferentes desórdenes (Namesny, 1993; Tabla 2-3; Fig. 2-4). Es habitual utilizar como índice de madurez de la lechuga a la compacidad y al color (Reid, 1985). También lo constituye el cogollo sólido y bien formado (la compacidad de la cabeza se correlaciona con su madurez, de acuerdo con la Tabla 2-3). Respecto el color de la lechuga, Brach *et al.*, 1982, citados por Watada (1989), pudieron monitorizarlo por refracción difusa para predecir el estado de madurez, de tal manera que el cambio de absorción de 640-660 nm a 700-750 nm fue útil para predecir la madurez. En la lechuga también son indicadores de madurez el desarrollo de las hojas y de tallos (Watada *et al.*, 1984).



Fig. 2-4. Escala fotográfica de los diferentes grados de compacidad de los cogollos de la lechuga Iceberg utilizados en el presente estudio (nomenclatura del autor). Nota: algunas lechugas presentan espigamiento y/o tallo largo, por lo que serían de baja calidad o incomercializables.

2.7.2.1. Atributos de calidad

2.7.2.1.1. Calidad visual general

La lechuga se comercializa, como la mayoría de los productos, sobre la base de su calidad visual. Los defectos en el aspecto constituye el primer aspecto de rechazo (Janick, 1979b). Una lechuga de elevada calidad debe de estar limpia, sin pardeamientos, compacta, turgente y dotada de un suave color verde brillante.

Como se ha comentado anteriormente, la calidad nutricional está cobrando un valor más importante porque el consumidor paulatinamente va reclamando cada vez más un elevado aporte nutricional, especialmente en vitaminas, fibra y minerales del que la lechuga es especialmente rica (Tabla 2-5) y de propiedades medicinales y dietéticas (Maroto *et al.*, 2000). Ello constituye un fuerte reclamo para su consumo como tal, pero la calidad visual es el factor fundamental para elegir una determinada compra de lechuga, más importante incluso que la calidad organoléptica, ya que la lechuga no es una fuente de sabor, por ello se consume siempre aliñada y, por tanto, las especias contribuyen ampliamente a su sabor final.

La calidad es lo opuesto a la senescencia, puesto que después de alcanzar la madurez o momento en que una hortaliza de hoja debe ser cosechada, empieza la fase senescente. El mantenimiento de la calidad debe oponerse, por tanto, a los síntomas senescentes. En la senescencia de las plantas en general, juegan un papel decisivo dos hormonas: el etileno y el ácido abscísico, aunque el papel de las dos en este proceso no está del todo claro (Huber, 1987; Barceló *et al.*, 1998). Por otro lado, el estado hídrico de la hoja se relaciona con la senescencia. Se cree que el aumento del turgor se opone a la senescencia. Además, otros procesos externos regulan la senescencia como son la temperatura, las AM y la luz. En el caso de las hortalizas de hoja son síntomas de senescencia los cambios de constituyentes como la pérdida de clorofila (amarilleamiento o “*yellowing*”), la disminución del nivel de proteínas y aumento de los aminoácidos, y el descenso del nivel de azúcares y del nivel de glucosinolatos.

Aharoni *et al.* (1975), afirmaron que con la pulverización de ácido giberélico sólo o con la citoquinina isopenteniladenina al cultivo de lechuga Romana, se retrasó el amarilleo de las hojas y, en menor medida, las podredumbres. Durante la poscosecha, estas lechugas, envasadas en PE, mantuvieron el color verde y estuvieron exentas de podredumbres durante más tiempo.

2.7.2.1.2. Peso

Es habitual expresar el peso de los productos hortofrutícolas como peso total, peso medio, peso por unidad, porcentaje de unidades por encima o por debajo de un peso dado, etc. (Kramer y Twigg, 1970). Cuando es fundamental una uniformidad en el peso, es necesario pesar unidades individuales de un producto. Tales medidas, sin embargo, deben de estar acompañadas de otras como son el volumen, diámetro y el ratio peso/volumen. En el caso de la lechuga este ratio es muy variable debido a las diferencias en la compacidad de las hojas, de tal manera que es bastante común

encontrar piezas del mismo tamaño que difieren considerablemente en su peso, como se comenta en el apartado siguiente (2.7.2.1.3. Tamaño).

2.7.2.1.3. Tamaño

El tamaño es uno de los atributos más importantes en los cultivos consistentes en una planta por unidad comercial, es el caso de la lechuga (Ryder, 1979a). El tamaño se mide por la dimensión, volumen o peso. El tamaño de las cabezas individuales puede afectar significativamente a su aspecto, prácticas de manipulación, potencial de conservación, selección de mercado y uso final. En algunos productos los consumidores pueden elegir o discriminar en base al tamaño (Kays, 1991).

El tamaño en la lechuga debe coincidir con el óptimo para un mercado específico, por ejemplo, el de las cabezas lechuga Iceberg en EE.UU. debe de estar comprendido entre 12,7 y 15,2 cm. de diámetro (Ryder, 1979a). En Europa existe gran diversidad de tamaños o calibres en función del mercado, variando entre 6 y 16. El número de calibre corresponde con la cantidad de lechugas de tamaño homogéneo que se pueden introducir de manera adecuada (sin existir claros espacios entre ellas y sin apretarse) en un embalaje de dimensiones 49 x 39 cm. Evidentemente, mayor calibre implica menor tamaño de la lechuga. El calibre habitual para exportación de la lechuga Iceberg es el número 8, es decir, 8 lechugas de tamaño homogéneo por caja de embalaje.

Tabla 2-4. Relación calibre–peso que debe presentar una lechuga Iceberg para considerarse de primera categoría para exportación (si además carece de defectos tipificados). Tabla suministrada por Gregal Soc. Coop.

CALIBRE	RANGO DE PESOS (g)
6	835 – 920 ^z
7	715 – 830
8	625 – 710
9	555 – 620
10	500 – 550
11	450 – 495
12	400 – 445

^z las pesadas se realizan con balanzas de una precisión de $\pm 5g$

Dentro de cada calibre, con destino a exportación, la lechuga se clasifica en primera categoría si cumple las exigencias de la Tabla 2-4. Es fácil deducir que aún teniendo perfectamente encajadas 8 lechugas en la caja estándar, puede que los pesos individuales de las piezas no estén comprendidos entre los rangos de pesos expuestos en la Tabla 2-4 por la distinta compacidad que pudiese existir entre las piezas. En este caso se dirá que la lechuga es de segunda categoría. Si dos cogollos de lechuga de tamaño semejante difieren significativamente en el peso, es debido a que presentan distinta compacidad y, por tanto, estado distinto de madurez comercial. Los estados de madurez de primera categoría corresponden con cogollos firmes pero no muy apretados (Tabla 2-3 y Fig. 2-4).

El tamaño no tiene por qué relacionarse con la madurez. En la mayoría de los casos, la lechuga es comestible y a menudo más deseable antes que después de completado todo su desarrollo (Ryder, 1979a).

2.7.2.1.4. Forma

La forma es importante en la calidad general de muchos productos. Este atributo es interesante para distinguir diferentes variedades dentro de la misma especie (Kays, 1991). De todas maneras, la forma puede ser alterada por varios factores como son, además de la especie, la variedad, las condiciones de producción y técnicas de manipulación no adecuadas.

Tradicionalmente la lechuga Iceberg debe ser redondeada en diferentes grados, dependiendo del ciclo. Por ejemplo, algunas de ellas se definen como de cabeza plana, semiredonda, compacta, no deformada, etc., o con los términos abullonado, acogollado, formación del cogollo, cierre del cogollo, etc. (Molina *et al.*, 1988). La forma y disposición de las hojas individuales varían y constituyen un indicativo de la variedad (Ryder, 1979a) y contribuye, de forma decisiva, a darle forma al cogollo. Existe en el mercado también una terminología de hojas para diferenciar los distintos tipos. Por ejemplo, los términos borde aserrado, borde ondulado, limbo plegado, nervios bien marcados, hojas exteriores abiertas, coronación en forma de cresta, cierre en espiral, etc. (Molina *et al.*, 1988).

2.7.2.1.5. Presencia de defectos

Los daños mecánicos o físicos (“*mechanical injury*”) están referidos, principalmente, a las magulladuras, a la presión o aplastamiento. Son debidos a golpes, roces y cortes, en definitiva, a todo lo que provoca la rotura de las células (Ryall y Lipton, 1979). También se pueden incluir las manchas o marcas debido a defectos genéticos, daños por insectos o daños por enfermedades, daños mecánicos, suciedad o manchas por fitosanitarios (Ryder, 1979a). Estos defectos actúan siempre en detrimento de la calidad inicial (Kays, 1991) y es uno de los mayores problemas de la lechuga (Janick, 1979b).

Las heridas constituyen un estrés físico para la planta o el fruto que daña al tejido, incrementando la tasa de respiración y la pérdida de agua. Además, favorece el ataque de patógenos (Ke y Saltveit, Jr., 1989a; Kays, 1991). La respuesta del tejido alterado va encaminada a su defensa contra el ataque de microorganismos (Ke y Saltveit, Jr., 1989a).

En la lechuga, los daños mecánicos están constituidos principalmente por magulladuras y aplastamiento de los nervios principales. El tejido dañado pierde turgencia y coloración. Constituye una de las principales pérdidas de calidad y desecho en las cabezas de lechuga sin envolver (Lipton y Ryder, 1989). Este daño se produce fundamentalmente en la recolección y acondicionamiento y suele pasar desapercibido, pero transcurridos unos días se hace evidente por la oxidación de los tejidos afectados. Su incidencia puede ser reducida haciendo una manipulación cuidadosa (Ryall y Lipton, 1979).

Kramer y Twigg (1970), clasificaron los defectos en cinco diferentes grupos atendiendo a su origen:

- Genéticos y fisiológicos: que tienen su origen en anomalías hereditarias o a condiciones ambientales desfavorables durante el crecimiento y maduración.
- Entomológicos: origen en insectos.
- Patológicos: que resultan de la acción de bacterias, hongos o virus.
- Mecánicos: por golpes, cortes, rozaduras, etc.
- Defectos superfluos o ajenos al material, es decir, defectos inofensivos que ocurren en la parte no comestible del material.

La presencia de defectos constituye, junto con el color y la forma, los tres componentes básicos de la calidad (Kays, 1991). Este autor hizo otra clasificación posterior a la de Kramer y Twigg (1970), agrupándolos en seis grupos principales:

- Factores biológicos: patológicos, entomológicos y de origen animal.
- Factores fisiológicos: alteraciones fisiológicas, madurez, desequilibrios nutricionales.
- Factores de desarrollo: clima y tiempo, suelo, agua.
- Daños mecánicos.
- Materias extrañas: medios de crecimiento, materia vegetal, residuos químicos.
- Aberraciones genéticas.

2.7.2.1.6. Color

El color es el atributo individual que mayoritariamente interviene en la calidad general (Kays, 1991), ya que es el primer atributo que detecta el ojo y la mente del consumidor (Ryder, 1979a). Sin embargo, para caracterizar objetivamente el color es necesario recurrir a aparatos de medida, evitando en lo posible la caracterización visual subjetiva de la persona y de la distinta iluminación que incide sobre el objeto (Chicharro, 1983).

El color aparente de un alimento depende de la longitud de onda de la luz incidente, de la longitud de onda reflejada o transmitida por el alimento reflejo de su selectiva absorción de luz, de las condiciones de fondo y del ojo y funciones cerebrales (Hardy, 1936; Jacobson, 1972). Por todo ello, la valoración del color requiere el conocimiento de la naturaleza de la luz incidente (intensidad y composición espectral). De este modo, para precisar las medidas, se han establecido tres iluminantes estándar (“A” o lámpara incandescente, “B” o luz similar a la luz solar del mediodía y “C” o día de luz nublado o luz del norte, denominado también D65 (McGuire, 1992). De estos, el

iluminante “C” emite la energía radiante más uniforme a longitudes de ondas críticas para la observación directa del color y es el más representativo de un día de luz (Hardy, 1936; Brice, 1954, citado por Jacobson, 1972).

El color verde brillante es el típico de una lechuga de buena calidad, aunque la tonalidad puede variar en función de varios factores, principalmente la variedad. Las tonalidades amarillas son siempre sinónimas de mala calidad. Existen una gran cantidad de factores durante la cosecha y en postrecolección que pueden alterar el color de un mismo producto, por ejemplo, variedad, desarrollo, madurez, nutrición, contenido acuoso, estación del año, climatología, manipulación inapropiada, daños por frío y daños físicos.

El color puede ser descrito en base a tres propiedades (Jacobson, 1972; Chicharro, 1983; Kays, 1991):

- Hue: el color que es función de la longitud de onda reflejada dominante. Es el tono de color propiamente dicho.
- Luminosidad, brillo, claridad, luminaria o luminancia: la cantidad de luz reflejada que depende no sólo del producto, sino también de la intensidad de luz de la fuente.
- Saturación, pureza o “chroma”: la porción de la luz total de una longitud de onda dada. Es la fuerza del hue o libertad de mezclas con el blanco.

Para la medida del color se utilizan colorímetros, espectrofotómetros o espectrocolorímetros (Chicharro, 1983). Los colorímetros o fotocolorímetros, por métodos fotoeléctricos y cálculo electrónico obtienen las coordenadas cromáticas que definen cada color.

2.7.2.1.7. Sabor y olor (“*flavor*”)

El “*flavor*” es una combinación del sabor y de sensaciones olorosas. Mientras que el sabor es fácilmente definible en términos de dulce, salado, amargo y agrio, el olor es considerablemente más complejo, a causa de la gran cantidad de compuestos volátiles que tienen las frutas y hortalizas (Ryder, 1979a). Se ha intentado correlacionar el sabor con otras características visibles como la madurez, color y variedad. Sin embargo, la necesidad de correlacionar los resultados de sabor es rara vez una consideración directa de calidad para decidir si se compra o no un producto (Kays, 1991). La calidad organoléptica se mide directamente por medio de escalas hedónicas subjetivas; de esta manera la lechuga se degusta al natural, siendo fundamental en este producto, más que su cualidad sabrosa, la inexistencia de sabores u olores extraños y su textura.

Junto con el sabor, el olor debe ser un criterio primario de calidad para decidir sobre la compra o ingestión de un producto (Kays, 1991). Los compuestos responsables de olor deben de ser volátiles, generalmente a la temperatura a la que se utiliza el producto y exhibir al menos algún grado de solubilidad en agua. Generalmente sólo una pequeña cantidad de compuestos volátiles contribuyen de forma apreciable al aroma.

Dentro de los atributos de calidad relacionados con el sabor y aroma, son de destacar los parámetros químicos: sólidos solubles, pH y acidez. Los sólidos solubles (SS) o contenido en sólidos solubles (SSC—“*Soluble Solids Content*”), expresa el contenido fundamentalmente en azúcares y ácidos. Los azúcares son los que mayoritariamente intervienen cuando se mide este parámetro, por tanto, los sólidos solubles pueden ser utilizados para estimar el contenido en azúcares (Mitcham *et al.*, 1996). Otros compuestos que forman parte de la medida de los sólidos solubles son los ácidos orgánicos, los aminoácidos, los compuestos fenólicos y las pectinas solubles. En la lechuga los azúcares predominantes son fructosa, glucosa y sacarosa por este orden, fibra (21% de los glúcidos totales) y los ácidos málico, cítrico, ascórbico, aspártico, glutamínico, linoleico, oleico, oxálico, fólico, palmítico y esteárico. De cualquier manera, se supone que los azúcares no constituyen en la lechuga un buen indicador de los SS, puesto que la lechuga es pobre en azúcares solubles y rica en compuestos fenólicos. Como es bien conocido, el pH y la acidez se relacionan con el contenido en ácidos y la capacidad tampón de la célula para determinar el grado de disociación de los ácidos en su protoplasma.

En la actualidad el sabor es un atributo importante según el producto. La calidad visual prima por encima de lo demás y en esto se traducen los mayores esfuerzos de los productores y comerciantes. Es más apetecible una lechuga dotada de buen aspecto que otra de peor aspecto pero que tenga mejor sabor, ya que, como se ha descrito anteriormente, se debe considerar que la lechuga se come cruda, pero nunca sola, sino acompañada por otros productos y/o condimentada con aceite, vinagre, sal, pimienta y especias en general. Estos condimentos pueden enmascarar las pequeñas diferencias de sabor existentes entre varias lechugas de la misma variedad, especialmente para los paladares menos exigentes.

2.7.2.1.8. Propiedades texturales

Las propiedades texturales o textura de los alimentos engloban una gran variedad de atributos relacionados con la firmeza, como son: deformabilidad, fracturabilidad, masticabilidad, rigidez, etc. Comprenden aquellas propiedades de los productos que pueden ser evaluadas visualmente o por el tacto (Kays, 1991). Con el propósito de cuantificar objetivamente las propiedades texturales de los alimentos se recurre a la definición de firmeza evaluada como la fuerza requerida para comprimir una muestra de alimento a una deformación dada.

La firmeza, se mide en newtons (N) en el SI y presenta una correlación perfecta con la resistencia a la deformación del alimento, que se mide en (kg/cm^2). A veces, estos dos términos se utilizan indistintamente. Los ensayos típicos para medir la firmeza son la prueba de punción (“*puncture test*”), prueba de compresión (“*compression test*”) y prueba de corte o rotura (“*shear test*”).

La palabra textura está relacionada con el frescor crujiente, tierno y succulento, que son términos que se aplican en grados variables para definir la calidad de las hortalizas de hoja. La lechuga Iceberg debe de tener un alto nivel de los tres (Ryder, 1979a).

Las propiedades internas texturales de las plantas son debidas a la composición de las células y a la estructura de éstas en sus tejidos. Las propiedades estructurales deben ser debidas primariamente a las paredes celulares o también a componentes que no se encuentran presentes, tales como los carbohidratos de reserva. La presión de turgor es otro parámetro extremadamente importante que afecta a la textura (Kays, 1991).

La textura óptima para la recolección de la lechuga es una cabeza completamente madura a nivel comercial, bien compacta y con un tacto suave a la presión. La firmeza o textura (fuerza máxima necesaria y/o trabajo para cortar bajo condiciones específicas) refleja la madurez (Janick, 1979b). Un grado de compacidad o firmeza muy baja es típico de una lechuga recolectada inmadura (Tabla 2-3). En el otro extremo, una lechuga sobremadura tendrá una compacidad alta, muy dura y tenderá a romperse o sufrir heridas con más facilidad (Janick, 1979b; Namesny, 1993). En las empresas del sector se le conoce a este fenómeno como lechuga reventada (si afecta al cogollo e su conjunto) u hoja reventada (si afecta a una o pocas hojas). Una lechuga sobremadura es, al mismo tiempo, una lechuga amarga (Janick, 1979b), suele ser más amarillenta y más propensa a los daños mecánicos y a la mayoría de las alteraciones.

2.7.2.1.9. Calidad microbiológica

La calidad microbiológica de la lechuga debe ser considerada en base a que se trata de un producto perecedero, con hojas ricas en agua, que crece cerca del suelo y se consume cruda (ICMSF, 1996). Estos mismos autores, definen los riesgos controlables que derivan de lo anteriormente expuesto: gérmenes fecales patógenos y alteración por bacterias y hongos.

La lechuga presenta muchos riesgos potenciales, incluyendo bacterias entéricas, parásitos y virus procedentes del suelo, de los fertilizantes o del agua del riego, de las deyecciones de insectos y de otros animales, del polvo, insectos, recolectores y manipuladores. La aplicación de aguas residuales, por cualquier procedimiento, a las plantas y la irrigación mediante aspersion con agua procedente de corrientes que reciben aguas residuales sin tratar o parcialmente tratadas introducen gérmenes patógenos de origen humano y nunca deben utilizarse. Aunque actualmente pueden conservarse durante 4 semanas en AC o AM, sin grandes cuidados en su manipulación, refrigeración y almacenamiento, se alteran rápidamente cuando se almacenan en las condiciones habituales de los hogares (ICMSF, 1996). Las bacterias llegan incluso a las hojas nuevas del cogollo interno de la lechuga a través de películas de humedad superficial sobre las hojas que las rodean.

Entre los microorganismos con importancia que pueden estar presentes en la lechuga se incluyen las bacterias patógenas humanas: *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Vibrio cholerae*, citadas anteriormente. Otros tipos de microorganismos, los comensales, que pueden causar podredumbre en condiciones favorables son *Flavobacterium* sp. (bacteria), *Chromobacter* sp. (bacteria), *Rhodotorula* sp. (levadura), *Sporobolomyces* sp. (levadura), *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Enterobacter* sp., *Aerococcus* sp., *Streptobacterium* sp., *Betabacterium* sp., *Lactobacillus* sp. (todas ellas bacterias), *Botrytis cinerea*, *Bremia lactucae*, *Sclerotinia* sp.(todos hongos), etc.

No obstante, a pesar de todos estos riesgos no se describen intoxicaciones por comer lechuga fresca entera cuando es cultivada de acuerdo con buenas prácticas agrícolas. Por un lado, la corta duración del período de conservación propuesto en el presente estudio, y por otro, la relativa falta de bibliografía sobre comunidades microbianas comensales de la lechuga entera, ponen de manifiesto que, para este caso, la calidad microbiológica no constituye un factor crítico para ser necesariamente evaluado en vistas a la mejora de la calidad visual y nutricional del producto comercializado entero. Sí lo es, si se comercializa como minimamente procesado, o como un atributo adicional de calidad.

2.7.2.1.10. Valor nutricional

La composición nutricional general de la lechuga está bien caracterizada (Tabla 2-5). No obstante, se han chequeado los valores aportados para la lechuga Iceberg por distintos autores, llegando a valores ligeramente dispares pero racionalmente similares, ya que, a veces, no se especifica variedad y se muestrean poblaciones muy dispares. Resumidamente, la composición media básica ofrecida por otros autores es la siguiente: 95% agua, 2,3% carbohidratos, 0,8% proteínas, 0,1% grasas y 0,2% minerales (Morris *et al.*, 1974). Proteínas 0,1%, grasas 0,19%, carbohidratos 2,1% (Lipton y Ryder, 1989). Para Jay (1978), la lechuga tiene 94,8% de agua, 2,9% de carbohidratos, 1,2% de proteínas, 0,2% de grasas y 0,9% de cenizas.

Tabla 2-5. Composición nutricional completa de la lechuga por 100 g de producto comestible.

Componente	Valor medio ^z
Agua (%).....	95,5
Energía (cal).....	13
Proteínas (g).....	0,9
Grasas (g).....	0,1
Hidratos de carbono (totales) (g).....	2,9
Hidratos de carbono (fibras) (g).....	0,5
Calcio (mg).....	20
Fósforo (mg).....	22
Hierro (mg).....	0,5
Sodio (mg).....	9
Potasio (mg).....	175
Vitamina A (U.I).....	330
Vitamina B ₁ (mg).....	0,06
Vitamina B ₂ (mg).....	0,06
Niacina (mg).....	0,3
Vitamina C (mg).....	6

^z adaptado de Watt *et al.*, 1975; citados por Maroto *et al.*, 2000

Todas las hortalizas de hoja son similares en cuanto a características nutricionales. Tienen alto contenido de agua, bajo en hidratos de carbono y proteínas, y de moderado a alto en vitaminas y minerales. Todas ellas son fuentes excelentes de vitaminas A y C, calcio, hierro, fósforo y potasio (Ryder, 1979a), y ácido fólico. La

lechuga Iceberg tiene cantidades moderadas de ácido ascórbico (6 mg/100g), vitamina A (330 U.I./100g), y calcio (20 mg/100g) (Ryder, 1979a). Las variedades de tipo Romana son más ricas en vitaminas A, C y calcio (Maroto *et al.*, 2000). Se considera a la lechuga Iceberg la menos nutrida dentro del amplio campo de variedades (Newman, 2004).

En un listado de hortalizas y frutos ordenados por su contenido nutricional, la lechuga ocupó el puesto 26 de la lista (Ryder, 1979a). Sin embargo, la contribución total a la dieta es función de la cantidad consumida. La lechuga es una de las hortalizas más populares, cuarta de una lista que ocupan primero el tomate, los cítricos y la patata (Rick, 1978; citado por Ryder, 1979a). El consumo de la lechuga no debe obedecer primariamente a su valor nutricional, también se han puesto de manifiesto desde la antigüedad sus propiedades tranquilizantes y dietéticas (Maroto *et al.*, 2000).

2.7.2.2. Alteraciones de la lechuga Iceberg durante su almacenamiento

Las alteraciones de la lechuga Iceberg durante su conservación y comercialización, al igual que en el resto de productos vegetales vivos, es decir, consumidos en fresco, se dividen básicamente en dos grupos: alteraciones fisiológicas o fisiopatías y alteraciones microbiológicas, microbianas, patológicas o enfermedad propiamente dicha. La sintomatología de las diversas alteraciones es, en algunos casos, difícilmente distinguibles (Lipton y Stewart, 1972). Incluso, la diferenciación entre algunas alteraciones patológicas y fisiológicas puede ser complicado en la lechuga cuando se habla de mancha canela y fases incipientes de “*bacterial soft rot*” (Lipton *et al.*, 1972). En la Fig. 2-5 se aprecia las características visuales de cada una de las alteraciones más frecuentes que han aparecido durante las experiencias del presente estudio.

La mayoría de las alteraciones que ocurren en poscosecha tienen su origen durante la fase del cultivo o, incluso, están ya presentes sin desarrollarse en las semillas de la lechuga. Este es el caso de varias enfermedades fúngicas y especialmente víricas. Más tarde, en poscosecha, estas alteraciones potenciales pueden desarrollarse cuando las condiciones de conservación no son las más adecuadas y/o cuando disminuyen las defensas de la lechuga en el caso de las alteraciones patológicas.

Otras alteraciones se desarrollan durante el cultivo casi exclusivamente, es el caso de las alteraciones por degeneraciones morfológicas, daños mecánicos y enfermedades del cultivo (Fig. 2-6). Si bien algunas enfermedades típicas del cultivo, en algunas ocasiones pueden manifestarse durante el período de almacenamiento: “*tip burn*”, virosis como el virus del mosaico y el “*big vein*”, ciertas podredumbres fúngicas como son podredumbre gris ocasionada por *Botrytis cinerea*, podredumbre por antracnosis (*Marssonina panattoniana*) y el mildiu provocado por *Bremia lactucae*. De cualquier manera estas alteraciones no suelen constituir ningún problema durante la comercialización de la lechuga puesto que son eliminadas y controladas antes del momento de la cosecha.



“Pink rib” o nervadura rosácea



“Russet spotting” o mancha canela



“Brown stain” o mancha parda



“Heart leaf injury” o daño del cogollo interior



“Butt discoloration” o pardeamiento del corte del tallo



“Bacterial soft rot” o podredumbre blanda bacteriana



“Browning” o pardeamiento



Marchitamiento

Fig. 2-5. Distintas alteraciones fisiológicas y microbiológicas que se han desarrollado en el curso de las experiencias de conservación y comercialización de la lechuga Iceberg.

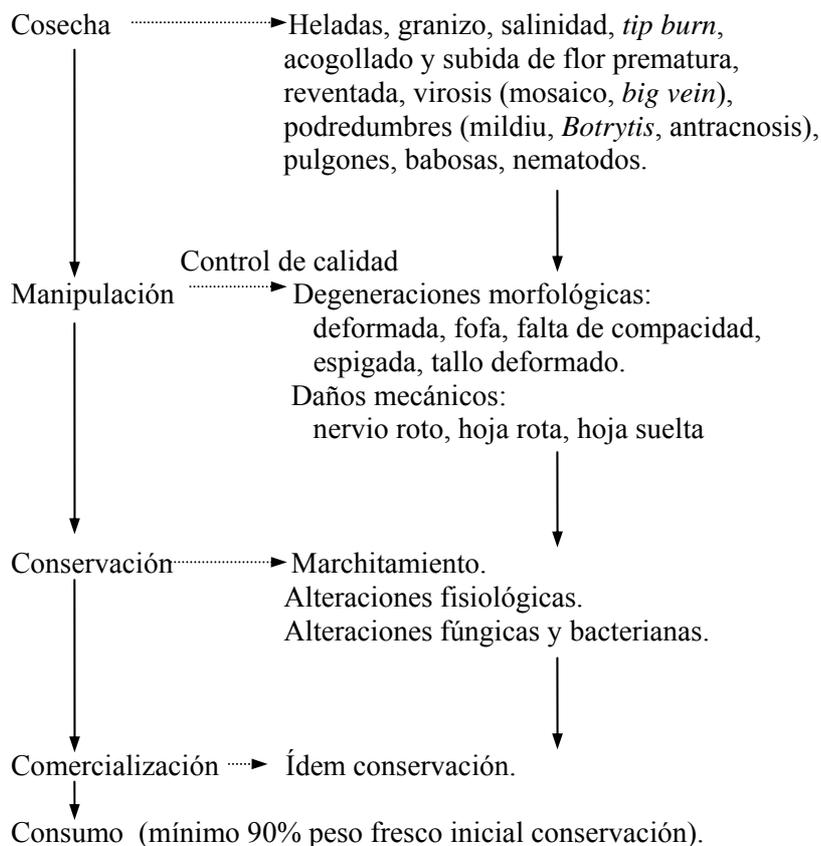


Figura 2-6. Alteraciones o desórdenes típicos de la lechuga Iceberg en un esquema habitual de manipulación desde la cosecha hasta el consumo. Se resaltan las alteraciones presentes durante las fases previas a la recolección y durante una manipulación inadecuada antes de la conservación o transporte.

Sin embargo, otras alteraciones tienen su origen y se manifiestan exclusivamente por la utilización de prácticas de almacenamiento inapropiadas. En referencia a esto, son de destacar los desórdenes provocados por la utilización de una temperatura de conservación próxima al punto de congelación de la lechuga (-0,16 de acuerdo con Lutz y Hardenburg, (1968) y -0,5 de acuerdo con Tonini y Cessari, (1969) y Namesny, (1993)) o la utilización de AM o AC inapropiadas para la lechuga. A este último respecto, Loughheed (1987), resumió en siete puntos las conclusiones de las diferentes combinaciones de gases metabólicos sobre el posible origen de las alteraciones fisiológicas que tienen su origen en la composición gaseosa del ambiente que rodea al producto:

1. Los niveles de O₂ y CO₂ en lugares cerrados de almacenamiento son raramente los mismos que en los espacios abiertos, y estos deben de ser tenidos en consideración cuando se realizan períodos largos de conservación.

2. El etileno puede estar presente en los recintos de conservación a niveles potencialmente peligrosos. En períodos largos de conservación son incluso peligrosos los niveles muy bajos.
3. Existe una gran variabilidad de las diferentes variedades con respecto a la influencia de las atmósferas controladas sobre el desarrollo de desórdenes.
4. El tiempo de exposición a niveles dañinos de gases metabólicos es fundamental para el desarrollo de los diferentes desórdenes.
5. La mayoría de las hortalizas, incluida la lechuga, almacenadas en AM o AC son más sensibles que aquellas almacenadas en aire a la misma temperatura.
6. Dentro de un rango normal de temperaturas de conservación, los efectos del etileno están directamente correlacionados con la temperatura.
7. Los bajos niveles de O₂ y los elevados de CO₂ controlan la biosíntesis del etileno y su modo de acción.

Los efectos de la HR son patentes en el desarrollo de las alteraciones. Algunos de los beneficios atribuidos a la modificación de la atmósfera en las hortalizas de hoja son debidos a la alta HR presente en el recinto (Lougheed, 1987). Esta afirmación pone de manifiesto que a la hora de hablar de AM se debe considerar que ésta no sólo se constituye por la modificación de los niveles de los gases respiratorios respecto al aire, sino que también incluye la modificación del contenido de vapor de agua o humedad en el interior del recinto respecto al aire circundante que, junto con la temperatura, son decisivos a la hora de intervenir en la respuesta de la lechuga a un nivel determinado de modificación de los gases respiratorios.

2.7.2.2.1. Marchitamiento

El marchitamiento es la consecuencia visible de las pérdidas de agua por transpiración. Los productos hortofrutícolas siempre se conservan en atmósferas que no están saturadas, por ello se establece un flujo de agua en forma de vapor desde el producto al ambiente que lo rodea, debido a que la actividad de agua es mayor en el producto que en el ambiente. Esta pérdida gradual del agua se traduce en que los tejidos van perdiendo consistencia y, por tanto, se tornan blandos, de mal aspecto y de mala calidad organoléptica.

Por los motivos explicados en el párrafo anterior, la lechuga tampoco escapa a este problema. Esta pérdida de agua se mide por las pérdidas de peso fresco por deshidratación y se traduce visualmente en el marchitamiento, pero no sólo en éste. Nwufu (1994), afirmó también que el estrés de pérdida de agua lleva consigo una degradación de la clorofila, entre otras sustancias. Esta degradación puede dar origen a una alteración observada o descrita más comúnmente en lechuga Romana, conocida como amarilleamiento o “*yellowing*” (anónimo, 1993). La decoloración de la lechuga, en general, se retarda en atmósferas con un contenido en O₂ menor o igual que 0,5%, pero éstas son dañinas para este producto (Lipton y Ryder, 1989).

La HR constituye el término más común para expresar el contenido en agua del aire húmedo y se define como el cociente de la presión de vapor del agua en el aire y la máxima presión de vapor posible a la misma temperatura expresado en porcentaje (Wills *et al.*, 1984; Adams y Moss, 1995).

El marchitamiento constituye la causa más severa de deterioro debido a que el mayor componente de la lechuga es el agua (94,8%, Tabla 2-1). La tasa de pérdida de agua, que depende del gradiente de presión de vapor entre la lechuga y la atmósfera, como se ha descrito anteriormente, es función de la temperatura del producto, temperatura del aire, de la HR del aire, del movimiento del aire y de la presión total. Se controla por un rápido enfriamiento, bajas temperaturas de almacenamiento, HR elevada y protección del envase (Morris *et al.*, 1974).

En la lechuga, el marchitamiento es la más importante como factor de pérdida de calidad visual, siendo las hojas envolventes del cogollo las únicas afectadas porque protegen de la deshidratación a las hojas interiores.

Los factores que afectan a las pérdidas de agua de los tejidos vegetales según Wills *et al.*, (1984) son:

- Desde el punto de vista físico, las pérdidas de agua son mayores cuanto mayor sea el cociente superficie/volumen. Es inmediato deducir que la lechuga (hojas) presenta una elevada relación.
- La naturaleza de la superficie de recubrimiento y de los tejidos inmediatamente subyacentes de las frutas y de las hortalizas ejerce un elevado efecto sobre la velocidad de las pérdidas de agua.
- La lesión mecánica de los tejidos favorece el flujo gaseoso muy rápido a través de la superficie dañada.

Los mismos autores señalaron los principales factores que afectan al control de las pérdidas de agua:

- Un método para reducir las pérdidas de agua de las frutas y hortalizas consiste en aumentar la HR del aire de su entorno reduciendo así las diferencias de presión de vapor entre el producto y el aire y por tanto la cantidad de agua que sería necesario evaporar para que el aire estuviera saturado. No obstante, se debe de considerar el crecimiento microbiano, que es potenciado cuando la HR es elevada.
- El movimiento del aire sobre el producto es un factor importante en la determinación de las pérdidas de agua. Para arrastrar el calor almacenado en el producto es necesario que el aire circule, pero hay que tener también en cuenta los efectos del movimiento del aire sobre las pérdidas de agua.
- El embalaje o envase consiste en un método de reducción de las pérdidas de agua por el hecho de tratarse de una barrera física semipermeable que dificulta el movimiento del aire en torno al producto. La eficacia con que el envasado

reduce la velocidad de pérdida de agua depende de la permeabilidad del envase al vapor y de lo apretado que se encuentra el producto en su interior.

2.7.2.2.2. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático (“enzimatic browning”-EB) es una alteración del color que ocurre cuando los compuestos monofenólicos de las plantas, en presencia de O₂ y de la enzima PPO, son hidroxilados a *o*-difenoles y, más tarde, oxidados a *o*-quinonas (Mastrocola *et al.*, 1989; Salunkhe *et al.*, 1991; Nicolás *et al.*, 1993; Sapers, 1993; Artés *et al.*, 1998a). Salunkhe *et al.* (1991), lo definieron como el oscurecimiento enzimático de los tejidos vegetales en aire debido a la presencia de derivados del *o*-dihidroxifenol, tales como el catecol y ácido cafeico así como los ácidos hidroxigálicos y el éster del ácido cafeico, tales como el ácido clorogénico.

El pardeamiento es común en los tejidos vegetales, incluida la lechuga, teniendo su origen en el metabolismo de los compuestos fenólicos descrito en el párrafo anterior. El pardeamiento enzimático de la lechuga parece deberse principalmente a la oxidación de análogos del ácido clorogénico por la PPO endógena (Fujita *et al.*, 1991). Esta decoloración limita la supervivencia comercial de la lechuga. La reducción del O₂ en la atmósfera que rodea a la lechuga mínimamente procesada reduce de forma significativa el pardeamiento, pero se debe tener en cuenta, que una excesiva reducción puede provocar un metabolismo anaeróbico no deseado (Castañer *et al.*, 1996).

A nivel enzimático, la enzima PPO típica de los tejidos vegetales está principalmente localizada en los tilacoides de los cloroplastos y en las mitocondrias y no está en contacto con sus substratos (compuestos fenólicos localizados en la vacuola) (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). El pardeamiento enzimático puede surgir sólo cuando la PPO es liberada por lesiones, cortes, trituración de los tejidos en presencia de O₂ (Mastrocola *et al.*, 1989). La PPO cataliza la oxidación aerobia de varios *o*-dihidroxi fenoles a sus correspondientes *o*-quinonas. Dos de estos polifenoles (ácido cafeico y ácido clorogénico) son los mencionados anteriormente y han sido reportados en la lechuga (Sharples *et al.*, 1963). Acto seguido, la enzima peroxidasa (POD) puede catalizar la oxidación de ciertos polifenoles en la presencia de *o*-quinonas (peróxidos orgánicos) para formar polímeros pardos responsables del pardeamiento visual.

Herman (1957), citado por Sharples (1964), reportó que las hojas de lechuga contienen varios polifenoles entre los que destacan el ácido clorogénico y el ácido cafeico. Otros identificados por el mismo autor fueron: ácido isoclorogénico, quercetina, kampferol y algunas flavonas no identificadas. Este rico contenido en polifenoles constituye el primer paso para denotar la elevada susceptibilidad de la lechuga al pardeamiento enzimático.

Sharples (1964) puso de manifiesto que existe una mayor cantidad de compuestos fenólicos en las hojas exteriores que en las interiores de la lechuga, de tal manera que el amarilleamiento y la necrosis marginal de los márgenes de las hojas, indicadores de senescencia, fueron asociados con el decremento de la concentración de polifenoles en las hojas envolventes más viejas. Los polifenoles suelen acumularse en los tejidos inmediatamente adyacentes a las células dañadas (donde se produce su

oxidación). Por último, el mismo autor citó en ese estudio una excesiva variabilidad en el contenido de polifenoles dentro de varias variedades de la misma lechuga Iceberg.

La PPO de la lechuga (EC 1.10.3.1) fue purificada por Fujita *et al.* (1991). La enzima oxidó rápidamente el ácido clorgénico y la (-)-epicatequina y mostró poca afinidad por el ácido cafeico y muy baja sobre el pirocatecol. Posteriormente, Heimdal *et al.* (1994), caracterizaron la PPO en la lechuga, llegando a la conclusión de que se encuentra en los tejidos fotosintéticos y en el vascular. Es específica para sustratos del grupo *o*-dihidroxi; pI de 3,6; pH óptimo de 5 a 8; temperatura óptima de 25 a 35°C; estabilidad del pH de 5 a 8 para 20 horas a 5°C y de 0 a 70°C para 5 minutos. Llegaron a la conclusión de que la enzima en el tejido vascular y fotosintético en la lechuga se puede clasificar como 1,2-bencenodiol: oxígeno oxidoreductasa (EC 1.10.3.1). Sin embargo, Chazarra *et al.* (1996), definieron a la PPO de la lechuga como monofenol dihidroxi-L-fenilalanina: oxígeno oxidoreductasa, EC 1.14.18.1.

López-Gálvez *et al.* (1996) y Tomás-Barberán *et al.* (1997), entre otros numerosos investigadores, pusieron de manifiesto el papel de la actividad fenilalanina amonioliase (PAL, EC 4.3.1.5.) y una acumulación de compuestos derivados del ácido cafeico en el pardeamiento enzimático. Estos *o*-difenoles pueden ser oxidados por la PPO para producir pigmentos pardos. Además confirmaron que las heridas (rotura de tejidos) en la lechuga provocan cambios en el metabolismo fenólico. El rápido cambio de color en la superficie de los tallos cortados de lechuga y de las hojas sugiere la presencia de PPO en los tallos también que puede ser origen de la alteración denominada pardeamiento del corte del tallo ("*butt discoloration*").

Se han publicado numerosos estudios con el fin de entender la función biológica de la PPO, pero su papel fisiológico no está totalmente determinado (Nicolás *et al.*, 1993; Heimdal *et al.*, 1994). Algunas hipótesis son:

- Posible papel en la resistencia a enfermedades.
- Formación y desarrollo de raíces.
- Hidroxilación de monofenoles.
- Captador de radicales libres.
- Secuestrador de O₂ en los tejidos fotosintéticos.

Sin embargo, se ha avanzado bastante en el estudio de la implicación de la actividad PAL en el proceso del pardeamiento a partir de la ruta fenólica, empezando con la desaminación de la fenilalanina por medio de PAL a ácido cinámico. El ácido cinámico es secuencialmente hidroxilado en varios compuestos fenólicos. En presencia de O₂, PPO oxida estos compuestos a *o*-quinonas, compuestos altamente coloreados, que se polimerizan o condensan simultáneamente entre ellos en un precipitado de pigmentos pardos de alto peso molecular responsables del pardeamiento (Castañer *et al.*, 1995).

El CO₂ puede inhibir el pardeamiento a bajas concentraciones, pero a elevadas lo incrementa (Siriphanich y Kader, 1985). Los efectos del CO₂ sobre la actividad PAL fueron puestos de manifiesto por estos autores: la actividad PAL aumentó en los tejidos de lechuga tratados con CO₂, especialmente después de transferir a aire. La PAL es, al menos en parte, responsable de las diferencias observadas entre los síntomas de daños de CO₂ en las diferentes variedades. Sin embargo, el efecto del CO₂ sobre la PPO no

está del todo claro. Se sabe que la actividad PPO disminuye en atmósferas con CO₂, especialmente cuando la lechuga se transfiere a 20°C, pero esta observación no es siempre evidente (Siriphanich y Kader, 1985). Por otro lado, la presencia de CO₂ inhibe el aumento normal de los compuestos fenólicos en los tejidos de lechuga. Sin embargo, los daños de CO₂ no se correlacionan bien con el nivel total de compuestos fenólicos.

El pardeamiento enzimático está ampliamente presente también en los nervios principales de las hojas. La actividad PAL y la concentración de compuestos fenólicos (por ejemplo, ácido clorogénico y ácido isoclorogénico) incrementan en las costillas escindidas de lechuga Iceberg después del corte. Loaiza-Velarde *et al.* (1997), demostraron la bondad de cortos tratamientos de calor sobre el pardeamiento y metabolismo fenólico. La exposición a 45°C durante 480 segundos, 50°C en 60 segundos, o 55°C en 45 segundos previno la actividad PAL en los tejidos mencionados, inhibiendo el pardeamiento. No obstante, se han probado multitud de técnicas que retardan el pardeamiento y que pueden ser utilizadas también para estudiar este proceso.

2.7.2.2.3. Oxidación o pardeamiento del corte del tallo

La lechuga es muy sensible a la oxidación o pardeamiento (“*butt discoloration*” - BD) por la elevada actividad PAL y PPO que presenta en el tallo. Es similar a la producida en las hojas cuando se producen daños mecánicos. Hasta el momento no se ha encontrado ninguna solución totalmente eficaz en cogollos enteros de lechuga, aunque se han propuesto varias, incluso fórmulas magistrales que se han tratado de vender a las empresas y cooperativas sin éxito alguno.

La alteración ha sido estudiada en detalle utilizando métodos fotocolorímetros y por medio de cromatografía líquida (Castañer *et al.*, 1995). También se ha propuesto soluciones al pardeamiento, si bien, han demostrado funcionar bien únicamente en cortes escindidos de tallo, es decir, en experiencias *in vitro* (Castañer *et al.*, 1996).

La oxidación del corte de tallo ocurre siempre de forma desigual en lechugas que vienen de condiciones idénticas, lo que demuestra que influyen numerosos factores sobre su incidencia y severidad. La coloración es ligeramente rosácea a pardo-rojiza (Ryall y Lipton, 1979). Estos autores, junto con Kader *et al.*, (1973) llegaron a la conclusión de que el CO a baja concentración puede ser quizás el único medio efectivo para inhibir la alteración, pero ésta se desarrolla rápidamente al trasladar la lechuga al aire. El pardeamiento del corte de tallo se puede ralentizar también por reducción del O₂ (0,5%), pero a niveles que provocarían fermentación (Ryall y Lipton, 1979).

2.7.2.2.4. Mancha canela

La mancha canela (“*russet spotting*” - RS) fue descrita por primera vez por Link y Gardner en 1919, citados por Lipton, 1961). A la alteración se le conocía inicialmente como “*brown spot*”, sin embargo, su investigación data de los años 1950 (Rood, 1956; Lipton, 1961). Su traducción al español debería ser como “punteado color canela”, ya que el término “*spotting*” hace mención a un punteado, es decir, manchas que aparecen siempre en grupo, nunca aisladas.

RS es una alteración fisiológica que se manifiesta como manchas generalmente esféricas de color canela localizadas en cualquier zona de las hojas, excepto en las hojas del cogollo interior (Rood, 1956; Lipton *et al.*, 1972; Janick, 1979b; Ryder, 1979a; Ryall y Lipton, 1979; Saltveit *et al.*, 1985; Ritenour *et al.*, 1995;), pero especialmente en los nervios principales, sobre el tejido blanco (Rood, 1956; Hyodo *et al.*, 1978; Lipton y Ryder, 1989; Ke y Saltveit, Jr., 1986 y 1989a). Aquí aparecen como ligeros hundimientos, mientras que sobre el limbo de la hoja son más superficiales y sólo aparece en casos acentuados (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). A pesar de ello, en nuestras observaciones se ha puesto de manifiesto la presencia de la alteración también sobre las hojas interiores del cogollo.

Las manchas son pequeñas, ligeramente pardas, pardo-oscuro a incluso verde oliva (Lipton *et al.*, 1972). Cuando la alteración es severa, las manchas pueden unirse y forman áreas irregulares que, si se sitúan sobre el nervio principal, son generalmente alargadas y forman depresiones (Ryall y Lipton, 1979), pero algunas ocurren por debajo de la superficie. Éste aparece difuso y oscuro debajo de las capas de las células de la epidermis (Lipton *et al.*, 1972; Ryall y Lipton, 1979). RS raramente afecta a los bordes de las hojas, excepto cuando la alteración es acusada (Janick, 1979b; Ryall y Lipton, 1979). El nervio principal constituye el tejido más sensible, concretamente la parte basal del nervio (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). La alteración se inicia sobre la cara abaxial de los nervios principales, cerca de la base (Lipton, 1961).

Los síntomas histológicos de RS fueron detallados por Lipton (1961) y Ilker *et al.* (1977). RS produce lesiones bien definidas, localizadas y en forma de punto o mancha, que suelen comenzar en la epidermis y alrededor de ocho capas de células del mesófilo (Lipton, 1961). En estados avanzados el tejido vascular también puede presentar decoloración y las células del mesófilo colapsan, resultando unas depresiones en forma de hoyo. De acuerdo con estos autores, los dos mayores cambios asociados con RS son, desde el punto de vista anatómico, el engrosamiento de las paredes celulares y la decoloración de la célula. Desde el punto de vista bioquímico, se encontró que el etileno induce una síntesis de PAL y el contenido de compuestos fenólicos de los tejidos afectados (Hyodo *et al.*, 1978). La lignificación de las células afectadas por RS, que se traduce en un engrosamiento de las paredes celulares y en una acumulación de compuestos fenólicos solubles tales como flavonoides y derivados del ácido clorogénico, es producido por la PPO, que produce como consecuencia una coloración parda del tejido afectado (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). La enzima AIA oxidasa también interviene participando en el control de los niveles de auxina endógena de los tejidos de la lechuga (Fig. 2-8) (Ke y Saltveit, Jr., 1989a).

Este desorden es más típico en las lechugas comercializadas en EE.UU que en Europa. (Morris *et al.*, 1974; Janick, 1979b; Ritenour *et al.* 1995 y 1996), por ello ha sido bastante estudiado por investigadores norteamericanos. En la clasificación de Beraha y Kwolek (1975), citados por (Janick, 1979b), los problemas poscosecha más importantes en el área de Illinois en EE.UU. fueron RS y RBD – “*rusty brown discoloration*”, junto con los daños mecánicos y las podredumbres. BNS – “*brown stain*”, TB – “*tip burn*”, PR – “*pink rib*” y RD – “*rib discoloration*” fueron menos comunes. Además es muy habitual en general en todas las investigaciones sobre conservación de la lechuga (Chazarra *et al.*, 1996).

Leja y Mareczek (1995), explicaron en detalle la formación de RS, basado en que la lechuga aunque produce muy poco etileno, menos de $0,1 \mu\text{L}/(\text{kg}\cdot\text{h})$, es extremadamente sensible a esta hormona (Kader y Kasmire, 1984). El etileno aumenta nada más producirse una herida, junto con un aumento de la actividad enzimática PPO y POD que promueven el pardeamiento y lignificación posterior, produciéndose RS.

Diversos estudios químicos han revelado que existe una lignificación, ya apuntada anteriormente, de las células afectadas por RS (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). Esta lignificación de las paredes celulares engrosadas se traduce en el efecto visual de la alteración. Además existe una acumulación y oxidación de compuestos fenólicos solubles tales como flavonoides y derivados del ácido clorogénico e isoclorogénico, mediada por la PPO resultando la coloración parda característica de los tejidos afectados por RS (Ke y Saltveit, Jr., 1989a; Chazarra *et al.*, 1996). Ke y Saltveit, Jr. (1989a), afirmaron que existen más de 30 compuestos fenólicos en la lechuga, de los cuales, sólo algunos de ellos incrementan en los tejidos dañados: (+) catequina, ácido clorogénico, ácido 3,5-dicafeoilquinico, ácido cafeico, entre otros. La severidad de la alteración se puede correlacionar con la cantidad de compuestos fenólicos producidos por la actividad PPO. Por otro lado, el etileno induce la actividad PAL responsable también del desarrollo de RS. En ausencia de etileno, no ocurrió incremento de la actividad PAL ni síntomas de RS (Hyodo *et al.*, 1978). Por tanto, el incremento de la PAL es un buen marcador bioquímico para la reacción de RS. Estos investigadores confirmaron también que la temperatura óptima para el desarrollo de RS en respuesta al etileno es de 5°C .

A nivel bioquímico, las heridas o daños mecánicos causan un breve incremento de la producción de etileno en la lechuga Iceberg, porque incrementa la actividad PAL, en función del grado del daño establecido (Ke y Saltveit, Jr., 1989a). El daño incrementa la concentración de varios compuestos fenólicos que se oxidan fácilmente a sustancias pardas por la PPO. También se incrementa el nivel de peroxidasa y el contenido de lignina de las células adyacentes. Este aumento enzimático ha sido observado también en respuesta a la infección vírica (Candela *et al.*, 1994; Alcázar *et al.*, 1995; Ezziyyani *et al.*, 2005). Los daños mecánicos no inducen directamente RS, pero aumentan la sensibilidad de la lechuga al etileno. Hyodo *et al.* (1978), citados por Ritenour *et al.* (1996), afirmaron que la actividad PAL, incrementa en tejidos expuestos al etileno y que se podía correlacionar con los síntomas de RS. Saltveit *et al.* (1985), afirmaron que se produce una gran cantidad de compuestos fenólicos durante el desarrollo de la alteración, llegando a la conclusión de que unos de estos compuestos flavonoides son los responsables de las manchas.

La representación esquemática del proceso bioquímico completo del desarrollo de RS fue presentado por Ke y Saltveit, Jr. en 1989a y traducido por Namesny (1993) (Fig. 2-7).

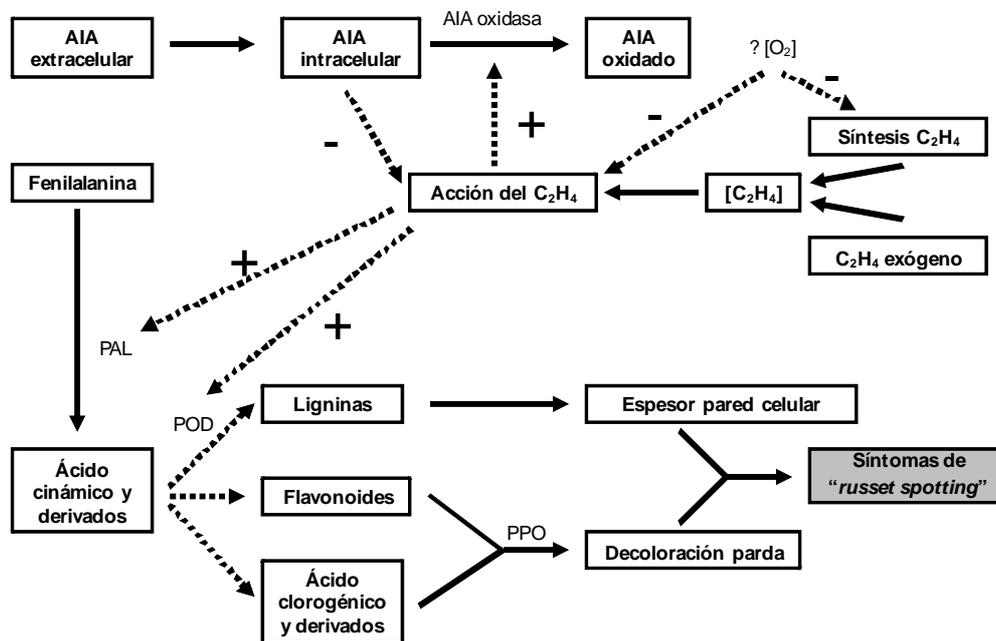


Fig. 2-7. Proceso bioquímico implicado en la aparición de mancha canela ("russet spotting") y su relación con la baja concentración de O₂. Símbolos: + (activación), - (inhibición), AIA (ácido indolacético), PAL (fenilalanina amonoliase), POD (peroxidasa), PPO (polifenol oxidasa) (adaptado de Ke y Saltveit, Jr. (1989a) y traducido por Namesny (1993).

Los factores que afectan a la incidencia de RS fueron acotados por Morris *et al.*, en 1974:

1. Temperatura. Máxima incidencia a 5°C y mínima a 0°C.
2. El etileno, que está claramente implicado. Concentraciones de 0,1 ppm causan RS a 5°C durante 3 días de exposición. La máxima incidencia puede ocurrir alrededor de los 7 días en estas condiciones.
3. La reducción del O₂ al 2% en la atmósfera de almacenamiento reduce RS, hecho confirmado por numerosos investigadores.
4. El incremento de CO₂ en la atmósfera de almacenamiento inhibe RS.
5. Las cabezas de lechuga muy maduras y firmes son más susceptibles a RS.
6. Las lechugas cultivadas durante la temporada media y final son más susceptibles. Especialmente en el ciclo Salinas. Este hecho quizás se deba relacionar fundamentalmente con las temperaturas en campo.
7. La infección con el virus del mosaico de la lechuga puede aumentar la incidencia de RS.

Mientras que la verdadera causa de la aparición de RS es todavía incierta, la exposición de la lechuga Iceberg al etileno a temperaturas moderadas ha sido identificado como la principal causa de aparición de esta alteración (Rood, 1956; Lipton *et al.*, 1972; Hyodo *et al.* 1978; Janick, 1979b; Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a; Ke y Saltveit, Jr., 1986; Lipton y Ryder, 1989; Kim y Wills, 1995), pero se han citado otros agentes inductores (Lipton, 1961; Lipton *et al.*, 1972; Janick, 1979b; Ryall y Lipton, 1979; Ke y Saltveit, Jr., 1986; Huber, 1987; Pratella y Brigatti, 1989; Lipton y Ryder, 1989). De hecho, Wang *et al.* (1984), describieron la presencia de RS en todos los tratamientos en los que la lechuga era envasada en PE macroporoso que, debido a esta macroporación, es dudoso que tuviera su origen en el etileno. Incluso la alteración estuvo presente en las lechugas sin envase alguno, tal y como se ha observado en el presente estudio.

Entre los efectores inductores de RS y que no participa el etileno, al menos directamente, se han citado las lechugas sobremaduras o la recolección después de un largo período de calor (Lipton *et al.*, 1972; Ryall y Lipton, 1979; Ke y Saltveit, Jr., 1986; Huber, 1987; Lipton y Ryder, 1989; Pratella y Brigatti, 1989). Almacenamientos superiores a 10 días (senescencia) (Ryall y Lipton, 1979). También por otros factores dispares no muy bien definidos que ocurren entre el campo, manipulación, transporte y comercialización (Morris *et al.*, 1974). La alteración depende también de la variedad y de los niveles de O₂ y CO₂ (Ke y Saltveit, Jr., 1986). Durante un almacenamiento prolongado a temperaturas entre 3 y 10°C (Ryall y Lipton, 1979; Lipton y Ryder, 1989). Incluso al recolectar la lechuga con una podredumbre incipiente (Lipton y Ryder, 1989). Otra posible causa es el CO añadido a la atmósfera de conservación. Klaustermeyer *et al.* (1974 y 1975), citados por Kader *et al.* (1977), reportaron que el CO añadido al aire induce RS en la lechuga Iceberg (máximo 1% CO a 5°C). Estos autores llegaron a la conclusión de que 400 ppm de CO es comparable, en cuanto estimulación de RS, a 0,1 ppm. En definitiva, es un desorden asociado a la senescencia (Lipton *et al.*, 1972; Janick, 1979b; Ryder, 1979a; Huber, 1987; Lipton y Ryder, 1989;). Aunque se trata de una alteración exclusiva de la postrecolección (Ryall y Lipton (1979), los factores previos a la cosecha que afectan a su incidencia son (Morris *et al.*, 1974): variedad, madurez y estación del año (Ryder, 1979a). Para este autor, además interviene la temperatura durante el cultivo, mientras que los factores poscosecha son: temperatura, etileno y composición de la atmósfera. Con 10 ppm de etileno a 5°C, los síntomas aparecen después de 3 días. La lechuga es sensible a esta hormona a concentraciones tan bajas como 0,1 µL/L, o 0,5 µL/L (Ryall y Lipton, 1979; Lipton y Ryder, 1989). La máxima sensibilidad a la alteración está en 10 µL/L a 3°C (Lougheed, 1987). A mayores temperaturas hay menos incidencia. El mismo autor reporta que en las condiciones de [O₂] < 8% + [CO₂] ≥ 5% inhiben la alteración. RS se puede prevenir con una atmósfera de 3-5% O₂+ 1% CO₂ (Lipton, 1961). Esta atmósfera no tiene operatividad debido a que provocaría otras alteraciones (mancha parda y o daño del cogollo interior). Sin embargo, la sola existencia de uno o varios de estos factores no implica necesariamente la aparición de RS, sino que debe estar presente algún factor de predisposición (Ryall y Lipton, 1979). De esta manera, cuando la temperatura ambiental entre los 9 a 14 días que preceden a la cosecha excede de los 30°C durante dos o más días consecutivos, la lechuga es más susceptible a RS (Ryder, 1979a). Estos autores consideraron a la alteración un claro síntoma de senescencia. Ke y Saltveit, Jr. (1989a), reportaron que la alteración es habitual a una concentración de pocas ppm de etileno a 5°C. La alteración incrementa si aumenta la concentración de etileno hasta 10 µL/L (Ryall y Lipton, 1979).

Uno de los aspectos que más dificultan la generalización de las condiciones que provocan la alteración, es que la presencia y severidad depende de la zona geográfica de cultivo, estación del año, y distribución varietal (Rood, 1956; Ritenour *et al.*, 1995). Aparece durante la conservación de la lechuga teniendo un máximo de incidencia sobre los 6,7°C (Rood, 1956). Estrés antes y después de la cosecha tales como temperaturas adversas, heridas y podredumbres pueden inducir la presencia de RS (Lipton *et al.* (1972), citados por Ritenour *et al.* (1996). Dado que las heridas inducen la actividad PAL, inducen los síntomas de RS (Ritenour *et al.*, 1995). Estos autores consiguieron disminuir los síntomas de RS por la aplicación de auxinas naturales (AIA) o sintéticas (2,4-D) a secciones de nervios de hojas de lechuga Iceberg, pero este fenómeno no fue observado en plantas enteras. La aplicación de Ca^{2+} o auxina sintética (2,4-D), inhibe RS (Ke y Saltveit, Jr., 1986) por medio de la inhibición de la biosíntesis de PAL “*in vivo*”.

Los tratamientos poscosecha para prevenir la alteración incluyen principalmente tratamientos con auxinas y sales de calcio sin utilización comercial (descritos en el párrafo anterior) y resistencia genética, (Saltveit *et al.*, 1985). Otros son la refrigeración entre 0 y 2,5°C, evitar la recolección de cabezas muy firmes, y conservar las lechugas en ambientes libres de etileno (Lipton y Ryder, 1989). Para las lechugas predispuestas a la alteración, por ejemplo, las que han sido recolectadas a 30°C o más, la conservación o transporte con una atmósfera de O_2 entre 3 y 5% puede ser útil, debido a que está demostrado que esta atmósfera inhibe RS.

Las concentraciones de O_2 comprendidas entre 0,5 y 8% redujeron el desarrollo de RS (Lipton, 1967, citado por Ke y Saltveit, Jr., 1989a). La reducción de la actividad PAL por los niveles bajos de O_2 puede ser la causa principal de esta inhibición. Otra razón concomitante a ésta pero, en menor grado, es la suave inhibición de la actividad PPO por la reducción del O_2 . Estos mismos autores reportaron que la concentración de los compuestos fenólicos solubles ((+)-catequina, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido 3,5-dicafeico), se redujeron por la reducción de O_2 .

Ryall y Lipton (1979), afirmaron que una concentración de O_2 entre 2 y 6% reduce la incidencia de RS. Sin embargo el O_2 nunca por debajo de 1% ni por encima de 8%, por los daños ocasionados por la reducción de O_2 y la falta de efectividad respectivamente. La adición de 1% CO a la atmósfera también redujo RS en presencia de etileno, pero esto es superfluo cuando la lechuga se conserva a bajo nivel de O_2 .

Lipton (1963), que consideró al RS, junto con otros autores mencionados anteriormente, una alteración claramente ligada a la senescencia, demostró que la conservación de la lechuga a 0°C retarda la aparición de la alteración.

Se ha demostrado que la POD, diferenciando entre actividad libre o soluble y actividad ligada o insoluble, regula la biosíntesis de lignina (Mader y Fussl, 1982, citados por Ke y Saltveit, Jr., 1989a). La reducción del O_2 inhibió fuertemente el etileno inducido por la actividad POD ligada, pero no de la soluble o libre. La inhibición de la actividad POD ligada se pudo correlacionar con la inhibición de RS por la disminución del nivel de O_2 . Los niveles bajos de O_2 no inhiben significativamente la actividad soluble de la POD, pero sí fuertemente los síntomas de RS, por lo que la actividad soluble de la POD no parece estar envuelta en la regulación de RS. El más dramático

efecto de la reducción del O₂ sobre la inhibición del RS reside en la inhibición de la acción del etileno.

2.7.2.2.5. Venas o nervadura rosácea

La importancia de la nervadura rosácea (“*pink rib*” - PR) se puso de manifiesto, por primera vez, en 1970 (Hall *et al.*, 1971), aunque sus síntomas estaban citados de años anteriores en lechugas de la variedad Iceberg, obtenidas de un productor en EE.UU., que había sido preenfriada bajo vacío y almacenada a 1,7°C durante unos días (Hardenburg, 1963). La alteración fue perfectamente descrita en el año 1953 por Marlatt; citado por Hall *et al.* (1971) de la siguiente manera: la porción basal de los nervios de las hojas exteriores del cogollo desarrollaban un color rosáceo. Durante el almacenamiento a 1,7°C, la alteración progresaba a través de las venas hasta los márgenes de las hojas donde aparecía necrosis y finalmente podredumbre bacteriana. Pero no fue hasta 1970, como se ha mencionado a principio del párrafo, cuando se puso de manifiesto su importancia.

La nervadura rosácea se caracteriza por una coloración rosácea y difusa de los nervios en su parte basal y en la zona del haz de las hojas exteriores del cogollo (Lipton *et al.*, 1972; Janick, 1979b; Ryder, 1979a). Cuando la alteración es leve, sólo se ven afectadas las hojas exteriores del cogollo (Janick, 1979b; Ryder, 1979a). La alteración, cuando está avanzada, cubre más parte del nervio pero siempre con una coloración rosácea tenue y difusa. También puede afectar a los nervios más pequeños (Janick, 1979b; Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a). La alteración afecta más a los nervios principales, aunque las pequeñas venas también pueden tomar color en los casos severos (Lipton y Ryder, 1989). Aparece principalmente por la cara adaxial (interior) de los nervios principales de las hojas, y en fases más avanzadas por la cara abaxial (exterior) también (Lipton *et al.*, 1972; Namesny, 1993). En fases intermedias de la alteración, a veces sólo se presenta por la cara abaxial, pero dada la fuerte intensidad rosácea, también puede observarse por la adaxial, aún sin tener afectados los tejidos de esta parte (Lipton *et al.*, 1972). En cabezas con síntomas severos, todas las hojas pueden estar afectadas e incluso la coloración puede alcanzar todo el recorrido del nervio (Lipton *et al.*, 1972).

Este desorden no es, precisamente, el más estudiado en la lechuga en EE.UU. La bibliografía sobre su incidencia y prevención escasea en relación a otros desórdenes de mayor importancia como mancha canela o mancha parda. No obstante, del estudio plasmado en este trabajo, se puso de manifiesto que ésta fue la alteración de mayor incidencia en las lechugas de la comarca del Campo de Cartagena y la única que se mostró decisiva a la hora de producirse pérdidas completas de las cabezas de lechuga con el actual sistema de comercialización en envasado individual en PP macroperforado.

Las causas del PR no están del todo aclaradas (Lipton *et al.*, 1972; Lipton y Ryder, 1989), pero se conocen factores que influyen. Estos son: altas temperaturas durante el transporte (Lipton *et al.*, 1972), elevación de la temperatura durante la conservación o conservación a una temperatura superior a la recomendada (Lipton *et al.*, 1972; Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989), la conservación en una AM baja de O₂ o incluso a bajas temperaturas, por ejemplo durante un mes a 2,2°C (Lipton *et al.*, 1972;

Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989), e incluso una semana a 10°C (Lipton *et al.*, 1972). Exceso de madurez, es decir, de compacidad o cabezas muy firmes (Lipton *et al.*, 1972; Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989). Crecimiento rápido, debido a que el PR difuso (ver más adelante) se asocia con células disruptivas (Ryall y Lipton, 1979). Las cabezas más duras son más sensibles que las firmes (Ryall y Lipton, 1979). Las altas temperaturas de conservación favorecen la aparición de la alteración (Ryall y Lipton, 1979). La falta de O₂ a nivel radicular durante la etapa de cultivo, por ejemplo en suelos encharcados, también ha sido citada como causa de PR en los cultivos españoles. PR puede aparecer en las lechugas antes de ser cosechadas sobre cabezas maduras, pero es mucho más común durante la conservación (Lipton, 1961; Janick, 1979b; Namesny, 1993).

Primeramente se supo que la coloración rosácea era el resultado de una oxidación y que la sustancia, o sustancias, que se producían debían de ser difusible a través de las paredes celulares (Lipton, 1961). Hoy se sabe que los polifenoles se oxidan a quinonas por acción de la PPO y por polimerización o por acción de la POD se transforman en melaninas, responsables del color rojo y pardo de la alteración.

Esta alteración no debe confundirse con la acumulación de antocianos que ocurre en varias variedades de lechuga. De este modo Maroto (1983), mencionó que es bastante frecuente en el cultivo invernal de la lechuga Trocadero la aparición en las hojas de un tono rojizo, sin que sea provocado por carencias en algún elemento fertilizante, sino por la acción del frío, y es debida a la acumulación de antocianos.

Hall *et al.* (1971), encontraron la bacteria *Pseudomonas marginalis* asociada a los síntomas de PR en la lechuga Iceberg. De acuerdo con estos autores, la alteración podría tener un origen microbiano, aunque se encuadre dentro del grupo de las enfermedades fisiológicas. Sin embargo, Ryall y Lipton (1979), encontraron a este desorden diferente al PR definido como alteración fisiológica, y por tanto un desorden similar al PR xilemático (ver siguiente párrafo).

Hasta el momento se han mencionado varios tipos de PR, como son el difuso, el laticífero y el xilemático, que se definen como sigue (Marlatt y Stewart, 1956; Lipton, 1961; Ryall y Lipton, 1979):

- Difuso: se centra entre los espacios del parénquima lagunar, a menudo encontrados a lo largo de los nervios principales.
- Laticífero: en el que se envuelven los tubos laticíferos que contienen y transportan el látex.
- Xilemático: que afecta a los tejidos conductores de agua (vasos del xilema).

En el PR difuso se produce normalmente en la parte gruesa basal de los nervios principales y aparece más intenso en la cara adaxial del nervio principal. La coloración rosácea está mayormente asociada con las paredes de las células del parénquima que se encuentra desorganizado alrededor del parénquima lagunar y con las paredes de células enteras adyacentes a las dañadas. Sin embargo, las paredes rosáceas pueden también ocurrir en grupos de células del parénquima distantes del lagunar.

La coloración rosácea de este tipo de PR es indistinguible de la coloración rosácea causada por rotura de las células ocasionada por daños mecánicos (Marlatt y Stewart, 1956; Lipton, 1961). No obstante, la coloración rosácea es idéntica a la ocasionada por PR. Los tejidos dañados, en vez de oxidarse por pardeamiento enzimático y dar coloraciones pardas, producen coloraciones rosáceas más bien del tipo de PR. En este caso, a lo largo del presente trabajo, hemos considerado a esta coloración rosácea como PR asociado a daños mecánicos, pero no se ha contabilizado a efectos de incidencia de la alteración en los distintos tratamientos.

El PR laticífero es el resultado de una coloración del látex que ha escapado de los tubos laticíferos por la ruptura de sus paredes y alguna o todas las paredes de las células adyacentes del parénquima. Se produce como consecuencia de una interrupción celular que acompaña a la formación de espacios de aire en el nervio.

En el PR xilemático, sólo las paredes de algunas nervaduras se colorean de rosa, y los elementos afectados se diseminan de forma simple o en grupos. Los autores que lo describen mencionan que la ruptura de los tubos laticíferos se debe a la presencia de una sustancia tóxica que difunde, sin mencionarla. Este tipo de PR no ha sido estudiado en detalle.

La causa específica de la aparición de cualquiera de los tres tipos de PR, era desconocida (Lipton, 1961; Ryall y Lipton, 1979). Sin embargo, parecía claro que la senescencia es el principal factor que desencadenaba la alteración después de la cosecha (Lipton, 1961; Namesny, 1993). El mecanismo bioquímico del origen de la coloración rosácea está ya perfectamente documentado de acuerdo con los párrafos escritos anteriormente, si bien el desconocimiento o discrepancias sobre la etiología de esta alteración hace que para otros autores todavía no esté del todo claro el origen (Namesny, 1993).

Para Ryall y Lipton (1979), el PR se puede minimizar evitando recolectar piezas sobremaduras (muy duras), preenfriando las lechugas a menos de 2,5°C, o por medio de prácticas culturales que impidan el desarrollo rápido de los nervios principales de las hojas y, por tanto, no dejen huecos de aire entre ellos.

El efecto de la composición gaseosa en la prevención de la alteración difiere bastante entre los distintos estudios. Para Lipton (1961) y Ryall y Lipton (1979), PR no se agrava por la presencia de etileno ni es reducido por la disminución del O₂ ni aumento de CO₂, de hecho, incrementa sustancialmente a bajas concentraciones de O₂ (< 2%) durante una semana a 10°C o un mes a 2,5 o 5°C. El CO, a niveles de 1-1,5%, retarda el desarrollo de PR. Sin embargo este efecto beneficioso desaparece cuando la lechuga se traspasa al aire (Lipton y Ryder, 1989).

Sobre el efecto de la temperatura en el control de la alteración, Namesny (1993), puso de manifiesto que la alteración era máxima en lechugas conservadas a 8°C y se reducía considerablemente en las almacenadas a 3°C. Asimismo, la alteración tiene mayor incidencia en las piezas sometidas a conservación o transporte prolongado (Ramsey *et al.*, 1967, citados por Namesny, 1993; Lipton *et al.*, 1972), por ejemplo, un mes de transporte a 2°C (Lipton *et al.*, 1972).

2.7.2.2.6. Mancha parda

La mancha parda (“*brown stain*” - BNS) se describió por primera vez en los supermercados de Nueva York (EE.UU.) en el año 1965 (Janick, 1979b; Ryder, 1979a). En 1970, se le denominó “*brown stain*” (Brecht *et al.*, 1973a). Se debe a la acumulación de CO₂ en la atmósfera de confinamiento (Stewart y Uota, 1971; Lipton *et al.*, 1972; Janick, 1979b; Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a; Siriphanich y Kader, 1985; Lipton y Ryder, 1989), ya sea en el interior del envase o en el recinto donde se conservan las lechugas. Por ello, la elevación del CO₂ en la atmósfera que rodea a la lechuga no se recomienda, incluso podía ser peligroso por las alteraciones que provoca (Watada *et al.*, 1964). A 5°C, la concentración de CO₂ en torno a 20% o superior, no puede ser tolerada durante un período de tiempo mayor de 4 días (Watada *et al.*, 1964).

El problema del desarrollo de la alteración no está confinado solamente a la conservación de la lechuga en AM o AC, también al almacenamiento de la lechuga en los camiones que, por problemas de ventilación, se producen acumulaciones peligrosas de CO₂ (Brecht *et al.*, 1973c). Este CO₂, como es natural, es producto de la respiración. Por otro lado, la incidencia y severidad de las lesiones se incrementa con el nivel de CO₂ (Stewart, 1973; Ryder, 1979a). En almacenamiento en aire, esta alteración no existe. Sin embargo, Brecht *et al.* (1973b), reportaron la incidencia de BNS en ausencia de CO₂, pero disminuyendo el O₂ por debajo de 5%. Esto es debido probablemente a la acumulación del CO₂ del metabolismo respiratorio que puede variar entre 0,2 y 0,5%, por lo que el umbral de sensibilidad de la lechuga a CO₂ disminuye conforme baja el contenido en O₂ de la atmósfera de confinamiento. Más adelante se darán otras apreciaciones sobre el efecto de la composición de la atmósfera sobre el desarrollo de esa alteración.

Una ligera coloración amarillenta a pardo-rojiza en los nervios principales o cercanos a ellos es una evidencia del inicio de BNS (Ryall y Lipton, 1979). Primeramente, las lesiones son de tacto húmedo (Janick, 1979b). La mancha parda se caracteriza por unas lesiones que suelen aparecer en las hojas de la parte del cogollo y en ambas caras de las hojas (Ilker *et al.*, 1977). Las lesiones en el haz o cara adaxial de las hojas suelen ser menos patentes que en el envés o cara abaxial (Stewart y Uota, 1971). Estas lesiones suelen ser, en su comienzo, difusas y de un color pardo muy tenue. Posteriormente, la parte exterior de las manchas se tornan más pardas y se unen para formar otras más grandes (Stewart y Uota, 1971; Lipton *et al.*, 1972; Ryall y Lipton, 1979). La alteración afecta sólo a los tejidos epidérmicos (Ilker *et al.*, 1977), aunque también puede afectar a algunas pocas células del parénquima (Ryall y Lipton, 1979), a menudo hacia la base de las hojas. Las hojas muy internas y las exteriores del cogollo están siempre exentas de la alteración. Las manchas aparecen a menudo cerca de los nervios principales y hacia la base de las hojas intermedias o, a veces, no muy internas del cogollo (Lipton *et al.*, 1972), por lo que los síntomas no son visibles en una cabeza entera. Cuando el CO₂ es muy elevado, las manchas pueden unirse formando grandes zonas coloreadas. Las manchas son más oscuras por sus márgenes (Ilker *et al.*, 1977; Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989).

BNS depende, además de la composición de la atmósfera, de la temperatura, de la variedad comercial de lechuga y de la estación del año. BNS es mayor a 0°C (Brecht *et al.*, 1973c). Las variedades más afectadas son Grandes Lagos, Calmar, Valrio y Merit. Como se ha mencionado anteriormente, los daños ocasionados por CO₂ dependen

de la concentración de éste (Watada *et al.*, 1964). En la lechuga Iceberg, puede aparecer incluso con 1% de CO₂ (Ryall y Lipton, 1979; Siriphanich y Kader, 1985; Lipton y Ryder, 1989). Stewart y Uota, (1971), Stewart (1973) y Loughheed (1987) afirmaron que el 2% puede causar ya el desorden y sus efectos se pueden ver incrementados junto con un 3% de O₂ (Lipton y Ryder, 1989) o con cualquier concentración de O₂ menor del 21% (Ryder, 1979a). La influencia de la concentración de CO₂ está ligada a la temperatura y el tiempo de exposición (Watada *et al.*, 1964; Brecht *et al.*, 1973c; Ryall y Lipton, 1979). Ryall y Lipton, (1979) afirmaron que una semana de conservación de lechuga a 1-2% CO₂ a 3°C provocó la alteración. Generalmente la alteración aparece después de conservar las lechugas con 10% de CO₂, a veces ocurre a 5% (Stewart y Uota, 1971), pero siempre a más de 4% (Lipton y Ryder, 1989). BNS se hace más patente en aire, cuando la lechuga ha estado almacenada en AC y se transfiere posteriormente al aire. Stewart y Uota (1971), llegaron a esta conclusión después de conservar la lechuga a 3,3°C en AC durante 7 días y transferirla posteriormente a aire durante 4 días a 10°C. BNS depende de la fecha de recolección y del área de producción (Brecht *et al.*, 1973c).

El CO intensifica la alteración (Brecht *et al.*, 1973b). El CO agrava BNS cuando la concentración de CO₂ es igual o superior al 1% (Lipton y Ryder, 1989). A la vez, se potencia el efecto si desciende el O₂ (Ryder, 1979a). Kader *et al.* (1973), afirmaron que BNS aumenta si, además de las condiciones gaseosas promotoras, existe CO en la atmósfera de confinamiento. Sin embargo, el CO en concentraciones de hasta el 5% añadido a aire sin CO₂, impide por completo el desarrollo de BNS. La combinación de 1 a 1,5% de CO + 3% O₂ incrementó la susceptibilidad de la lechuga al BNS (Stewart, 1973).

Las variedades comerciales de lechuga Iceberg difieren en la susceptibilidad (Brecht *et al.*, 1973c; Stewart, 1973), por ejemplo, Calmar es la más susceptible, pero depende del área de crecimiento. Lo mismo ocurre con Climax en sentido inverso (Stewart, 1973).

Stewart y Matoba (1972) y Ryall y Lipton (1979), citaron algunos factores que influyen la susceptibilidad de la lechuga a los daños ocasionados por CO₂. Estos son: la diferente predisposición según variedad. Dentro de la variedad, la distinta área de producción; y la variabilidad, dentro de la misma área y variedad, de acuerdo con el momento de la cosecha, sin que los autores no explicaran tales observaciones. Este tipo de alteración de la lechuga, a diferencia del resto, aparece más frecuentemente en las lechugas blandas que en las firmes (Ryall y Lipton, 1979). La mayor coloración del margen es más intensa en las cabezas blandas. Las concentraciones de CO₂ por encima de 20% pueden producir también que las lesiones se tornen acuosas y se produzca exudación de gotitas de agua.

Las alteraciones ocurridas por elevados niveles de CO₂ y por bajos niveles de O₂ ocurren en los tejidos blancos y amarillentos de las hortalizas de hoja, nunca en los tejidos verdes (Lipton, 1977). Este autor atribuye este hecho a un factor de la fase del cultivo, concretamente a las diferencias observadas entre los distintos tejidos en el ratio de fotorrespiración/fotosíntesis. Esto explica también la diferente susceptibilidad al BNS de la misma lechuga recogida poco después del amanecer y a otras horas del día, donde el ratio varía. Este efecto lo identificó midiendo el contenido en SS de los nervios

principales de las hojas, siendo más altos inmediatamente después del amanecer que dos horas después.

Respecto a la influencia de la temperatura de conservación, se puede añadir que la lechuga conservada a 0°C es más sensible que la almacenada a 2,8°C. La alteración está casi ausente a 10°C o a temperaturas superiores, pero no se recomiendan para la lechuga (Stewart y Uota (1971), por acortar drásticamente su supervivencia comercial. Los efectos varían ampliamente con la variedad considerada (Janick, 1979b; Loughheed, 1987) y es máximo a 0°C (Brecht *et al.*, 1973c; Loughheed, 1987). BNS afecta también a la lechuga Romana, aunque en las mismas condiciones que ésta, presenta una menor incidencia, es decir, es menos susceptible al CO₂ (Lipton, 1987). La severidad a BNS disminuye a medida que aumenta la temperatura, de tal manera que concentraciones entre 1 y 2% de CO₂ pueden no ser dañinas a 10°C (Brecht *et al.*, 1973a; Ryall y Lipton, 1979). Sin embargo, aparece fácilmente a 10°C si anteriormente la lechuga ha estado almacenada a menos de 3°C. Este efecto de la temperatura está ligado a la distinta solubilidad del CO₂ en el protoplasma de la célula.

La base fisiológica y bioquímica de la alteración no está bien entendida (Siriphanich y Kader, 1986) ni hasta el momento se ha esclarecido totalmente. Estos autores sugirieron que las elevadas concentraciones de CO₂ inhiben la actividad succínico deshidrogenasa resultando una acumulación de ácido succínico que es tóxico para los tejidos. No obstante, concluyeron que no hubo correlación entre la acumulación de este ácido y la incidencia de BNS. Morris y Kader (1977), asociaron la acumulación de acetaldehído con las manchas de BNS sobre los tejidos, además de acumularse en menor parte el ácido succínico. Como el CO₂ incrementa la acidez de los tejidos, el pH de las células puede disminuir debido a la disociación del ácido carbónico a bicarbonato más protones hasta el punto que las funciones metabólicas pueden no ser mantenidas. A menos que las células no tengan un mecanismo para eliminar el CO₂ o mantener el pH dentro de un rango fisiológico, el CO₂ podría ocasionar la muerte celular. La capacidad tampón del tejido es fundamental. La solubilidad del CO₂ en las células a 20°C es la mitad que a 0°C (Knoche, 1980, citado por Siriphanich y Kader, 1985), de ahí que al aumentar la temperatura disminuya la susceptibilidad de la lechuga al gas. Estos mismos autores lanzaron la hipótesis, al mismo tiempo, basada en que la inducción de la actividad PAL bajo CO₂, favorece un incremento en el contenido fenólico por medio de un mecanismo de defensa de la planta contra un estrés, pero esto no ocurre así, por lo que el CO₂ debe inhibir algún paso incipiente del metabolismo fenólico y acumularse el metabolito tóxico (probablemente ácido cinámico), responsable de la coloración de BNS.

Evidentemente, la prevención de la aparición de la alteración se basa en evitar las prácticas que puedan favorecer la acumulación de CO₂ en la atmósfera de confinamiento de la lechuga y/o reducir excesivamente el contenido en O₂. Por ello, se debe conservar la lechuga en recintos suficientemente ventilados, tanto en cámaras frigoríficas como en los compartimentos de camiones, trenes o barcos. Si se utiliza AC, se deben fijar atmósferas de tipo II, es decir con elevadas concentraciones en O₂ y muy bajas en CO₂, por ejemplo, 10-12% O₂ y 0-2% CO₂ (Artés, 1987). En AM los estudios de conservación de lechuga han estado muy limitados hasta hace poco, por la dificultad de encontrar polímeros plásticos con un ratio de permeabilidad adecuado de los gases metabólicos, que generen y mantengan atmósferas del tipo II, por lo que, habitualmente, se han utilizado plásticos macroporados con el fin de evitar la acumulación de CO₂.

Hasta la fecha constituye la práctica común en la comercialización de la lechuga. Otras prácticas para prevenir la aparición de la alteración consisten en utilizar variedades poco susceptibles, evitar cosechar lechuga inmadura o de cogollo poco firme y el resto de prácticas positivas que se han comentado en este apartado.

Los procesos bioquímicos y fisiológicos que determinan la aparición de la alteración, se ilustran en la Fig 2-8.

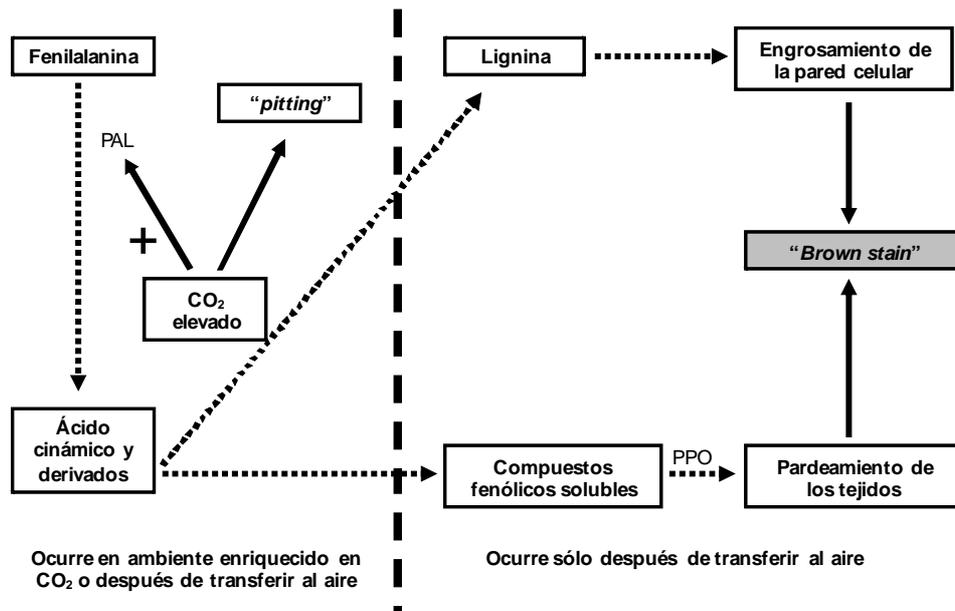


Fig. 2-8. Procesos bioquímicos y fisiológicos en el desarrollo de mancha parda (“brown stain”). Símbolos: + (activación), PAL (fenilalanina amonioliasa), PPO (polifenol oxidasa) (adaptado de Ke y Saltveit Jr. (1989b) y traducido por Namesny (1993).

2.7.2.2.7. Daño del cogollo interior

El daño del cogollo interior se conoce en la literatura anglosajona como “heart leaf injury” – HLI. Hardenburg, en 1963, denominó a este desorden inicialmente como “red heart”, por el aspecto de color pardo-rojizo que presenta la alteración. Este desorden, como PR, ha recibido muy poca atención en la literatura científica. Su origen es similar a BNS, pero es menos frecuente. Las hojas del cogollo interior dañadas por CO₂ presentan un margen rojizo-anaranjado y las hojas enteras pueden llegar a colorearse (Lipton *et al.* 1972). Este síntoma es más frecuente y severo en cogollos blandos y poco firmes (Lipton *et al.* 1972). El color rojizo-oscuro de la alteración en las lechugas afectadas se observa principalmente dando un corte longitudinal al nivel del tallo. Las hojas afectadas son precisamente las más pequeñas, es decir, las que están directamente insertadas en el ápice del tallo. En estados más severos, puede afectar también a hojas más exteriores, pero siempre dentro de la zona del cogollo interior. Anatómicamente, el pardeamiento de las hojas ocurre en el limbo de la hoja, tanto por la cara adaxial como abaxial, aunque las hojas afectadas son las más pequeñas, y por tanto, carecen de un nervio central patente.

Las lechugas susceptibles pueden presentar ya los síntomas con exposiciones de tan solo 1% de CO₂ durante una semana de conservación a 1,7°C, pero los problemas más serios ocurren cuando la concentración supera el 2%, tanto a 21% de O₂ como a concentraciones inferiores de este gas (Lipton *et al.*, 1972). Los síntomas evidentes aparecen cuando el CO₂ supera el 2%. Esta alteración se favorece no sólo cuando se acumula CO₂ sólo, sino cuando a la vez, existe un descenso de O₂, fundamentalmente a niveles del 5% (Lipton *et al.*, 1972).

Las prácticas de prevención de esta alteración son exactamente las mismas que las utilizadas para BNS.

2.7.2.2.8. Podredumbre blanda bacteriana

La podredumbre blanda bacteriana (“*bacterial soft rot*” - BSR) es la principal causa de podredumbre en los vegetales (Lund, 1983). Además constituye la causa más frecuente de deterioro en los tejidos poco ácidos de la lechuga durante prolongados períodos de almacenamiento y en las piezas afectadas de necrosis marginal (TB-“*tipburn*”) en condiciones húmedas (Ryall y Lipton, 1979).

La lechuga y el resto de las hortalizas poseen un elevado contenido en agua con muy poco tejido consistente. La epidermis con la capa cerosa, es una barrera importante contra la invasión, pero es delgada y frágil. Así, las plantas se aplastan, se rompen o lesionan fácilmente durante la recolección o transporte, y las bacterias proliferan donde aparecen hojas rotas, provocando podredumbre blanda bacteriana (ICMSF, 1996). A este respecto, suele ser habitual encontrar en la bibliografía estudios sobre BSR asociada a otras alteraciones de tipo fisiológico ya que, en muchas alteraciones de este tipo se destruyen tejidos y en fases avanzadas pueden liberar jugos celulares que son utilizados por las bacterias comensales para su proliferación y posterior descomposición. Como excepción, Ryder (1979a) no encontró correlación entre BSR ocasionada por bacterias del género *Pseudomonas*, que deterioran tejidos vegetales, y otras alteraciones, incluyendo daños mecánicos, TB, RS, RBD, BNS, PR y RD.

Todas las especies patógenas forman parte de una comunidad microbiana normal de la superficie de las hojas (Magnuson *et al.*, 1990), denominados microorganismos comensales. La mayoría son bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas* sp., *Erwinia* sp., *Serratia* sp., *Alcaligenes* sp., *Enterobacter* sp., etc.). Otras son Gram-positivas como *Bacillus* sp. y *Curtobacterium* sp., etc. También levaduras como *Candida* sp., *Cryptococcus* sp., *Pichia* sp., *Torulaspota* sp. y *Trichosporon* sp. y hongos filamentosos como *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., *Phoma* sp., *Aspergillus* sp., y *Penicillium* sp.

Muchas especies de *Erwinia*, y otras bacterias fitopatógenas, son capaces de producir una serie de enzimas degradativas de las paredes de las células vegetales que actúan sobre la lámina media y los polisacáridos y proteínas, debilitándolas y solubilizándolas, para finalmente causar la ruptura de la célula y su muerte. Estas enzimas son principalmente pectinasas, celulasas, proteasas y fosfolipasas (Chatterjee *et al.* 1994). En la mayoría de textos esta acción degradativa, que constituye la base del éxito de este tipo de bacterias para colonizar tejidos vegetales, se simplifica con el término pectinolíticas o pectolíticas. Sin embargo, las bacterias que provocan podredumbre, normalmente, no penetran los tejidos intactos, sanos y no dañados, sino

que necesitan aberturas naturales como estomas y lenticelas, o heridas en general para entrar a los hospederos (Bartz y Eckert, 1987, citados por Hao y Brackett, 1994). Una vez la bacteria entra en los tejidos internos requiere nutrientes para sobrevivir y crecer.

La podredumbre blanda bacteriana es una alteración muy frecuente que se presenta en las plantas hortícolas, acompañada frecuentemente de mal olor, que puede aparecer tanto en campo como en almacén (Noval y Castro, 1987; Escriche *et al.*, 1994). Los tejidos vegetales afectados se descomponen rápidamente en presencia de calor húmedo y cuando disminuye el nivel de O₂. Los patógenos se propagan especialmente por los espacios intercelulares de los tejidos parenquimatosos. Al desintegrarse la pectina de las paredes celulares, se destruyen las laminillas medias, disolviéndose las uniones celulares (Müller, 1981). Las temperaturas superiores a 2°C favorecen su aparición durante la conservación. Sin embargo, incluso a 0°C, puede ocurrir la podredumbre (Ryall y Lipton, 1979). La prerrefrigeración de la lechuga se ha mostrado beneficiosa para reducir su incidencia durante la comercialización (Martínez y Artés, 2002).

Los síntomas de las podredumbres bacterianas se manifiestan como tejidos acuosos fruto de la descomposición de las células, por la citada actividad pectinolítica de las bacterias aisladas (*Pseudomonas* sp.: *P. cichorii*, *P. marginalis*, *P. viridiflava* (Ryder, 1979a; Lund, 1983; Swinburne, 1983; Noval y Castro, 1987; Casanova, 1996; Llácer *et al.*, 1996); *Xanthomonas* sp.: *X. campestris* (Casanova, 1996), *X. campestris* pv. *vitians* (Noval y Castro, 1987; Llácer *et al.*, 1996), *Erwinia* sp.: *E. carotovora* (Lund, 1983; Casanova, 1996; Hernández *et al.*, 1996); *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Llácer *et al.*, 1996), *E. amylovora* (Hernández *et al.*, 1996), *E. herbicola* (Hernández *et al.*, 1996), y otras especies más raras como: *Pseudomonas cepacia*, *P. gladioli* y *P. aeruginosa*, (Lund, 1983). *Clostridium* sp., *Bacillus* sp. (Hao y Brackett, 1994). Para Jay (1978), la podredumbre blanda bacteriana está causada por *E. carotovora* y varias especies del género *Pseudomonas*, mientras que *Bacillus* sp. y *Clostridium* sp., tienen papeles secundarios. De cualquier manera, una de las bacterias mayoritariamente aislada es *Erwinia carotovora*. Esta especie es estimulada en su crecimiento anaerobio por la presencia de nitratos incorporado a la planta en forma de abono (Jansen y Gorris, 1994). Bajo estas condiciones la patogenicidad de la bacteria induce actividad respiratoria nitrato reductasa inhibida por el O₂. Por tanto, el incremento de la fertilización nitrogenada implica una mayor susceptibilidad a las podredumbres blandas bacterianas. Sin embargo, otras especies patógenas como *P. marginalis*, inhibe su desarrollo en presencia de nitratos.

Janick (1979b), indicó que el agente biótico causal de la podredumbre blanda bacteriana son especies del género *Pseudomonas*, que es, al mismo tiempo, el que causa mayor problema dentro de las podredumbres de las lechugas. Lo cierto es que la mayoría de los autores aislaron varias especies de los tejidos podridos. En realidad, solamente las bacterias pectinolíticas se consideran verdaderos patógenos porque pueden destruir las células bacterianas, que una vez destruyen las células y liberan el contenido protoplasmático al exterior, este jugo nutritivo es aprovechado por multitud de bacterias comensales que proliferan. Es por ello, por lo que generalmente se suelen aislar gran cantidad de bacterias de las podredumbres. De acuerdo con Hao y Brackett (1994), las especies *E. carotovora* y *P. fluorescens* exhibieron altas actividades poligalacturonasa y pectatoliasa, mayores que en *X. campestris* tanto en aire como en AM. Las AM del 10% CO₂ y 5% O₂ no redujeron de forma significativa la actividad

enzimática, por lo que se puede deducir que el concurso de AM en la conservación de la lechuga puede no presentar ningún beneficio aparente, ya que la conservación de ésta, no admite una modificación tan elevada como la comprobada por estos autores. A este respecto Kader *et al.*, en 1989, plasmaron una revisión sobre el efecto de las AM en la podredumbre blanda bacteriana de la que se resaltan los aspectos más importantes para la lechuga más adelante.

Los síntomas incipientes de BSR son pequeñas lesiones más o menos pardas y suavemente alargadas (Lipton *et al.*, 1972). La podredumbre bacteriana, en el inicio de la colonización, suele presentarse como una serie de manchas pardas, muy similares a las de mancha canela, sobre todo en los estados incipientes. Pero existen varios procedimientos para distinguirlas (Lipton *et al.*, 1972), como por ejemplo, que las lesiones de la podredumbre tienden a aparecer húmedas y casi invariablemente pueden ser un vestigio de una hoja podrida que estuvo en contacto con la hoja en cuestión.

Las podredumbres bacterianas que pueden causar daños a las lechugas tienen un aspecto similar en estados avanzados y están a menudo localizados sobre las hojas. A veces, esta enfermedad ocurre también en el corte de tallo, en este caso se denomina “*Butt rot*” y se ha aislado *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Snowdon, 1991). Inicialmente, los podridos se inician por lesiones marginales, nerviales o internerviales en las hojas externas, que van adquiriendo un color pardo más o menos oscuro o rosado, de consistencia blanda (Casanova, 1996). Con elevada HR las podredumbres se vuelven blancas y acuosas. Por el contrario, con baja HR se desecan y adquieren una consistencia papirácea de color amarillento (Casanova, 1996), o pardo (Ryall y Lipton, 1979), y la colonización de las hojas exteriores del cogollo llega a detenerse (Ryall y Lipton, 1979). Cuando la enfermedad empieza en el nervio central o cerca de éste, el primer síntoma son pequeñas manchas pardo-amarillentas a motas de aspecto oxidado, o manchas que llegan a unirse, consecuentemente los nervios se tornan pardo-rojizos. Como la enfermedad se extiende rápidamente, la cabeza entera puede convertirse en una masa parda escurridiza (Ryall y Lipton, 1979).

Las podredumbres bacterianas se distinguen de otras podredumbres ocasionadas por hongos como *Sclerotinia* sp. porque no se observa desarrollo de micelio fúngico, ni siquiera en condiciones de alta HR. Sólo, y como patógenos oportunistas o secundarios, se pueden desarrollar ciertos hongos sobre los tejidos macerados ya afectados, desarrollándose el micelio fúngico y ocultando el verdadero agente causal de la podredumbre (Ryall y Lipton, 1979). Esto se ha puesto de manifiesto por Martínez *et al.* (2003) en podredumbre blanda bacteriana de la coliflor.

El ejemplo más relevante del género *Pseudomonas*, como causante de podredumbre blanda bacteriana, lo constituye la especie *P. cichorii* que causa “*bacterial zonate spot*” en col y lechuga (Jay, 1978). Es la bacteriosis más importante en la Comunidad Valenciana durante el cultivo de la lechuga (García-Morató, 1995).

Los factores intrínsecos y extrínsecos que afectan a la podredumbre blanda bacteriana han sido ampliamente descritos por Lund, en 1983. Estos son:

- Factores intrínsecos:
- Extensión del daño en el momento de la cosecha.

Las bacterias necesitan, generalmente, aberturas naturales o artificiales (heridas) en la planta para poder empezar la colonización de los tejidos.

- Estado de madurez de la planta.

Las plantas maduras contienen menos defensas contra la proliferación de los microorganismos.

- La turgencia de los tejidos de la planta.

Los tejidos turgentes, con un elevado contenido en agua, presentan mayor actividad del agua (a_w), parámetro necesario para el desarrollo bacteriano. La mayoría de las bacterias Gram-negativas necesitan una a_w del vegetal superior a 0,97 para poder presentar crecimiento activo, mientras que las Gram-positivas necesitan valores superiores a 0,90 (Adams y Moss, 1995).

- La estructura de las paredes celulares y su vulnerabilidad por las enzimas bacterianas.

Como se ha mencionado anteriormente, una bacteria que presenta enzimas capaces de degradar las paredes celulares intactas tendrá mayor éxito en provocar la colonización del tejido vegetal y, por tanto, de provocar la podredumbre. Por otro lado, en aquellas partes del vegetal donde la estructura de la pared sea más vulnerable o tenga menor espesor se facilitará también la proliferación bacteriana. Por ejemplo, la cutícula en el envés de las hojas es más fina que en la zona del haz y se conoce perfectamente que la cutícula es una de las principales barreras contra la proliferación microbiana.

- La concentración en la planta de nutrientes bacterianos y de compuestos antibacterianos.

Los compuestos antibacterianos de las plantas están formados por varias sustancias denominadas genéricamente Phytonzide (Müller, 1981) y suelen ser compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos específicos de cada especie vegetal. Otras son más generales, como los aceites esenciales (Adams y Moss, 1995) o varios ácidos, como el salicílico. Otros compuestos defensivos se sintetizan como respuesta a un ataque microbiano, como las fitoalexinas (Barceló *et al.*, 1998). Respecto a la concentración en la planta de nutrientes que aprovecha el patógeno, es evidente de que a mayor valor nutritivo más facilidad para la proliferación bacteriana. Si bien se debe considerar que los verdaderos patógenos, denominados biótrosos (Dickinson y Lucas, 1987) son los que desvían el metabolismo de la planta en provecho del patógeno, los patógenos necrótrofos se alimentan de los componentes del mismo vegetal descomponiendo sus tejidos y, por tanto, el desarrollo es independiente del nivel de nutrientes circulantes de la planta.

- La habilidad de los tejidos de la planta para formar barrera para la infección bacteriana.

Cada planta presenta un rango de patógenos a los cuales es susceptible y otros a los que es resistente. Las plantas no hospederas de un patógeno dado desarrollan un tipo de bloqueo necrótico contra estos patógenos cuando sus tejidos son invadidos que se denomina reacción de hipersensibilidad (H-R-“*hypersensitivity reaction*”) (Egea *et al.*, 1995; Montesinos *et al.*, 2002).

▪ Factores extrínsecos:

• Temperatura.

La temperatura limita el crecimiento de las bacterias, puesto que las especies que provocan podredumbres (especies psicrótrofas o mesófilas) lo hacen a temperaturas generalmente elevadas (crecimiento óptimo por encima de 30°C). Como la mayoría de los vegetales se almacenan entre 0 y 1°C, al mismo tiempo que se retrasa la senescencia, se reduce el desarrollo de las bacterias, pero no se suele inhibir su crecimiento. A bajas temperaturas, *P. marginalis* es una causa de podredumbre más importante que *E. carotovora* y viceversa a 24°C. Concretamente a temperaturas entre 2 y 21°C, *P. marginalis* causa mayor daño. La temperatura mínima de crecimiento para diferentes cepas de *E. carotovora* está entre 3 y 6°C, pero no existe una información completa sobre la tasa de crecimiento de estas bacterias. Cepas de *P. marginalis* pueden crecer incluso a temperaturas inferiores a 1°C.

• Humedad relativa y humedad libre.

Aunque se recomienda una HR de almacenamiento de los vegetales de 95%, una HR superior, del 98%-100%, es más recomendable para evitar las pérdidas de agua y el marchitamiento, pero siempre a una temperatura inferior a 4°C para inhibir el desarrollo microbiano de bacterias mesófilas. A elevada HR, las pequeñas fluctuaciones de temperatura ($\cong 1^\circ\text{C}$), pueden dar como resultado una condensación y formación de agua sobre la superficie interior del envase y del vegetal incrementando el riesgo de podredumbre. Una HR del 94-95% es probablemente lo bastante baja para prevenir el crecimiento y desarrollo de bacterias en la superficie de las frutas y hortalizas. La multiplicación y desarrollo de bacterias en estas condiciones dependerá de la extensión a la cual la alta HR ocurre localmente como resultado de:

- La humedad en el ambiente.
- La velocidad de movimiento del aire.
- La presencia de células debilitadas en la superficie del tejido.
- La densidad de envasado del producto.
- El tipo de envasado.

La utilización de polímeros plásticos para envasado permite mantener una elevada HR en el espacio de cabeza. Por ejemplo, la utilización de PVC como material de envasado para la lechuga puede mantener la calidad y prevenir las pérdidas de agua, pero incurre en el riesgo de desarrollo bacteriano (Lund, 1983). La perforación de este envase es aconsejable si se mantiene a menos de 4°C.

- Composición de la atmósfera.

Las atmósferas favorables para controlar el desarrollo de las podredumbres blandas bacterianas contienen aproximadamente 2 O₂ y 10% CO₂. El mecanismo de acción de estos gases se debe principalmente a la reducción de la tasa de respiración del producto, más que a los efectos directos sobre las bacterias, ya que es necesario reducir el O₂ por debajo de 0,8% para inhibir el desarrollo de especies de *Pseudomonas*. Se requieren concentraciones de O₂ iguales o inferiores a 1% para obtener una apreciable reducción del crecimiento y germinación de las esporas (El-Goorani y Sommer, 1981). Por otro lado, también se requieren altas concentraciones de CO₂ para producir efectos. Sin embargo, con 10% de CO₂, independientemente de la concentración de O₂, el crecimiento de los microorganismos causantes de estas podredumbres se reduce a la mitad, incluyendo las especies de *Erwinia*. Este hecho es debido a que el CO₂, además de tener una acción fungistática, también es bacteriostático. De hecho, los efectos antimicrobianos de las AM se atribuyen principalmente a las elevadas concentraciones de CO₂, el cual puede reducir el pH intracelular e interferir con el metabolismo celular por la difusión de H₂CO₃ a través de la membrana bacteriana (Bennik, 1997).

La sensibilidad de la concentración de O₂ en la atmósfera ha sido puesta de manifiesto para *E. carotovora*, *E. atroseptica* y *P. marginalis*. “*In vitro*”, las concentraciones de O₂ entre 1 y 3% inhiben su crecimiento. El crecimiento se reduce linealmente con el logaritmo del descenso de la concentración de O₂ (Barkai-Golan, 1990). El crecimiento de *E. carotovora* y *E. atroseptica* se inhibe por encima del 10% CO₂ y por la ausencia de CO₂, es decir, es necesario al menos un 0,03% CO₂ para que se produzca crecimiento de estas dos especies. Otro hecho curioso ocurre por la estimulación del crecimiento por CO₂ cuando el contenido en O₂ está por debajo del normal del aire. De este modo, cuando la concentración de O₂ es del 2% y, por tanto, limita el crecimiento micelial, el contenido de CO₂ entre 4 y 16% estimula el crecimiento de *B. cinerea* entre otros hongos. Este estímulo ha sido atribuido a la fijación del CO₂ dentro de las células fúngicas. La energía obtenida de esta fijación, debe de ser significativa en algunos hongos cuando el O₂ es limitante y cuando las concentraciones de CO₂ no son limitantes para el desarrollo del hongo (El-Goorani y Sommer, 1981; Barkai-Golan, 1990).

2.7.2.2.9. Daños por bajos niveles de oxígeno

La lechuga no está exenta de otras alteraciones además las descritas en los párrafos anteriores durante su conservación, aunque hemos comprobado que las que se van a describir en los siguientes párrafos son menos frecuentes durante las experiencias realizadas. Los daños por bajos niveles de oxígeno (“*low oxygen injury*” - LOI) pueden aparecer en los casos en que la atmósfera de conservación sea muy reducida en O₂ (<1%) (Lipton *et al.*, 1972) y menor de 0,5% de acuerdo a Lipton y Ryder (1989), especialmente si el almacenamiento se hace a 10°C (Ryall y Lipton, 1979). Esta alteración se conoce con el nombre de “*low oxygen injury*” (daños por bajos niveles de oxígeno) u “*oxygen deficiency*” (Ryall y Lipton, 1979).

Los síntomas consisten en una coloración parda-rojiza del corazón del cogollo (Lipton y Ryder, 1989), acompañado de zonas más o menos acuosas y brillantes (Lipton *et al.*, 1972). Las hojas jóvenes son a menudo de color pardo-rojizo. La coloración de las hojas del corazón del cogollo es a menudo el síntoma, a veces único, más frecuente de la alteración (Lipton *et al.*, 1972). A la alteración siempre le acompaña un ligero sabor dulce acompañado de olores anómalos (Ryall y Lipton, 1979).

Lógicamente, la medida preventiva y totalmente eficaz de controlar la alteración consiste en evitar el almacenamiento tanto en AM como en AC, con contenidos muy bajos de O₂, no solamente a concentraciones dañinas sino próximas a ellas, ya que un aumento de la temperatura durante la comercialización (ruptura de la cadena de frío) puede provocar un descenso del nivel del O₂.

2.7.2.2.10. Pardeamiento del nervio central

Hemos observado en otras experiencias y campañas, la existencia esporádica de pardeamiento del nervio central ("*rib discoloration*" - RD) en lechugas de la Región de Murcia. También es denominada "*rib blight*" o "*brown rib*" (Janick, 1979b; Ryder, 1979a). Aunque "*rib blight*" es un término utilizado también por Lipton *et al.*, (1972) indistintamente para denominar a la alteración "*internal rib necrosis*" que aparece sólo en el ciclo Climax (Ryall y Lipton, 1979) y que puede ser confundida con una podredumbre por *Botrytis cinerea* antes del afloramiento del micelio (Messiaen *et al.*, 1995).

El pardeamiento del nervio central se ve fuertemente influenciado por la estación del año (primavera más que en verano) y afecta especialmente a los ciclos Grandes Lagos (Sharples *et al.*, 1963). Aunque la causa no está del todo esclarecida (Lipton *et al.*, 1972; Ryder, 1979a), es una manifestación más de la senescencia (Huber, 1987), acompañado por un desfavorable tiempo caluroso (Lipton *et al.*, 1972; Lipton y Ryder, 1989). Además la lechuga con RD es más sensible a las podredumbres que la normal y tiene más posibilidades de desarrollar PR (Ryall y Lipton, 1979). Estos mismos autores llegaron a la conclusión que esta alteración, junto con PR, es más habitual en las lechugas más maduras (sobremaduras o senescentes). Es más común en la lechuga cuando crece a temperaturas superiores a 27°C, o cuando la temperatura nocturna se encuentra entre 13 y 18°C (Ryall y Lipton, 1979). Estos mismos autores también sugirieron que las condiciones que provocan un rápido crecimiento también favorecen el desarrollo de la alteración.

Las lesiones se caracterizan por ser de color amarillas a negras. La mayoría aparecen en las hojas exteriores del cogollo, principalmente en la zona de la curvatura (Ryall y Lipton, 1979; Ryder, 1979a). La coloración suele aparecer por debajo de la epidermis, aunque a veces, suele estar este tejido también implicado y se forma una ligera cavidad (Ryall y Lipton, 1979). Tiene su origen durante el cultivo (Ryall y Lipton, 1979). Durante la postrecolección no se puede hacer nada para evitar el desorden (Lipton y Ryder, 1989). Sharples (1964) afirmó que los tejidos afectados por RD generalmente tienen los contenidos más bajos en polifenoles.

Las medidas preventivas de aparición de la alteración consisten en evitar cosechar las lechugas en estado sobremaduro. Otras medidas preventivas están

relacionadas con temperatura del cultivo y evitar en lo posible la utilización de ciclos vulnerables, de acuerdo con lo que se ha mencionado anteriormente.

2.7.2.2.11. Decoloración parda herrumbrada

La decoloración parda herrumbrada (“*Rusty brown discoloration*”- RBD) o “*rusty rib*” es una alteración que se caracteriza por exhibir una coloración parda en forma de mosaico (Ilker, *et al.*, 1977) o pardo-rojiza (Janick, 1979b), es decir, el defecto tiende a seguir los nervios pero no está confinado a ellos (Ryall y Lipton, 1979). En algunas piezas, los nervios pueden presentar un aspecto normal y el tejido intervascular puede estar coloreado. Tiene su origen en la epidermis, pero en estados avanzados alcanza también al mesófilo. Esta alteración está limitada al ciclo Climax (Lipton *et al.*, 1972; Ryall y Lipton, 1979), por lo que carece de importancia para el presente estudio. La importancia fisiológica que puede tener esta alteración, es que RBD aparece a los pocos días cuando la lechuga Climax se conserva a 0°C (Ilker *et al.*, 1977), por lo que se podría interpretar como un daño por frío. De cualquier manera creemos que siendo una única variedad afectada y a 0°C, la lechuga Iceberg debe seguir manteniéndose dentro de la categoría de productos no sensibles a los daños por frío. Además, se trata de una alteración estacional, que se encuentra generalmente en la lechuga al término de su ciclo de desarrollo, a veces asociada a la infección del virus del mosaico (Ryder, 1979a), en cuyo caso, los síntomas se agravan (Ryall y Lipton, 1979), sobre todo si la lechuga se conserva posteriormente a 1°C (Janick, 1979b). Por otro lado, las cabezas más firmes (sobremaduras) son las más sensibles (Lipton *et al.*, 1972).

Las causas de la alteración no han sido todavía esclarecidas, el desorden se desarrolla rápidamente en cabezas almacenadas una semana a 0, 2,2 o 5°C, pero es menos severa a 10°C. (Lipton *et al.*, 1972).

2.7.2.2.12. Daños por congelación

El daño por congelación (“*freezing injury*” - FI) ocurre cuando la lechuga se almacena por debajo de su punto de congelación ($-0,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) (Ryall y Lipton, 1979; Lipton y Ryder, 1989) por un determinado tiempo o bien, puede ocurrir durante el cultivo a temperaturas ambientales de menos de -1°C , puesto que las hojas exteriores del cogollo protegen en parte al cogollo comercializable de la temperatura ambiental. Por ello, esta alteración afecta solamente a las hojas exteriores durante el cultivo, y a las hojas exteriores del cogollo durante la conservación frigorífica.

Los síntomas se manifiestan por la separación de la epidermis con el consecuente posterior oscurecimiento de las hojas afectadas. Las lechugas terminan teniendo un aspecto empapado en agua por rotura celular (Lipton y Ryder, 1989). Si la temperatura asciende posteriormente, se puede producir podredumbre sobre los tejidos rotos afectados, generalmente podredumbre blanda bacteriana.

2.7.2.2.13. Necrosis marginal

La necrosis marginal (“*tipburn*” - TB) se caracteriza por unas manchas necróticas en los márgenes de las hojas debido a la deficiencia en calcio de estos tejidos (Ryder 1979a; Lipton y Ryder, 1989; Misaghi *et al.*, 1992). Esta alteración suele aparecer en campo, en la fase más avanzada del cultivo y próxima a su recolección, especialmente sobre lechuga sobremadura más o menos firme (Ryder, 1979a). El desarrollo de la alteración no se ve afectado por las prácticas poscosecha, aunque el oscurecimiento de las lesiones y la posterior podredumbre de las zonas afectadas pueden tratarse por métodos expuestos con anterioridad. La severidad de la alteración se mide, no sólo por el número de hojas afectadas, sino también por el ancho de la zona necrótica (Ryall y Lipton, 1979).

La necrosis marginal se inicia antes de la cosecha de la lechuga por la ruptura de los conductos de látex y la consecuente expansión del látex entre las células. Esta secuencia de eventos recuerda al PR laticífero donde la ruptura de los conductos de látex provoca una coloración rosácea. La diferencia en el color de un proceso tan similar, es debido exclusivamente a los distintos tejidos envueltos: rosa cuando la clorofila no está presente y pardo cuando lo está (Ryall y Lipton, 1979).

No se han desarrollado hasta el momento métodos eficaces para el control de la alteración, salvo el uso de variedades resistentes (Misaghi *et al.*, 1992). Una de las formas ingeniosas de prevenir la alteración durante postrecolección, si las prácticas comerciales lo permiten, es la eliminación total de los tejidos del tallo realizado entre las 8 a 20 horas después de la recolección y sin necesidad de refrigerar, efecto debido probablemente a la reducción del crecimiento. De cualquier modo, la alteración suele presentarse en las fases de cultivo y la lechuga afectada se destría, por lo que no suele constituir ningún problema durante el proceso de comercialización.

2.7.2.2.14. Podredumbres fúngicas

Además de las frecuentes podredumbres bacterianas descritas en la lechuga, se pueden producir podredumbres fúngicas esporádicamente durante poscosecha, pero también durante el cultivo (Martínez-Romero *et al.*, 2008). Por ejemplo, una de las más típicas está ocasionada por *Sclerotinia* sp. (Dennis, 1987; Casanova, 1996), denominada “*sclerotinia drop*” (Lipton y Ryder, 1989), “*lettuce drop*” (Grogan *et al.*, 1984), “*watery soft rot*” (Dennis, 1987), o “*drop*” (Ryder, 1979a). Otra podredumbre menos habitual, es la ocasionada por *Botrytis* sp. (Casanova, 1996), por ejemplo *B. cinerea* (Jay, 1978; Dennis, 1987), denominada “*gray mould*” (Ryder, 1979a; Lipton y Ryder, 1989) o “*gray mold rot*” (Jay, 1978) o incluso “*grey mould rot*” (Snowdon, 1991), dependiendo de si es referida con inglés británico o americano.

En nuestras condiciones, las podredumbres poscosecha causadas por hongos son escasas, aunque para Dennis (1987), las fúngicas ocasionadas por *Botrytis cinerea* y hongos del género *Sclerotinia* pueden causar pérdidas en la lechuga de igual o menor importancia que las bacterianas. A este respecto, las podredumbres fúngicas son muy típicas y casi un proceso habitual en las lechugas en campo, especialmente las que inciden sobre las hojas exteriores del cogollo que están en contacto con el suelo. Este mero hecho, que presenta siempre una elevada carga de bacterias y hongos saprofitos y

alto contenido en humedad por el riego, multiplica la probabilidad de presencia de podredumbres. Estas alteraciones no causan ningún problema al cogollo comercial de la lechuga que está protegido por las capas de hojas envolventes.

En las lesiones de la lechuga ocasionadas por *B. cinerea*, son típicas las áreas húmedas de color verde-grisáceo o pardo. Los tejidos infectados empiezan blandos, viscosos y cubiertos con un característico color grisáceo debido al desarrollo de conidios en masa sobre conidióforos. La extensión de la zona del podrido es rápida si las condiciones son favorables (Ryall y Lipton, 1979; Dennis, 1987). Puede aparecer en todo el ciclo de desarrollo de la lechuga (Lipton y Ryder, 1989). La podredumbre ocurre en diferentes estados de desarrollo (Ryder, 1979a). En el campo causa, en las plantas más maduras, una corona o cabeza podrida. En el almacén aparece en las plantas más viejas, sobre los tallos y sobre la base de las hojas más viejas (Ryder, 1979a). Requiere alta HR y temperaturas entre 20 y 23°C. Se previene con una refrigeración adecuada. Puede ser importante cuando se realizan períodos largos de almacenamiento, por ejemplo, durante transporte marítimo transcontinental (Ryall y Lipton, 1979).

El crecimiento de *B. cinerea* se inhibe más del 50% cuando la concentración de O₂ es menor del 4% (Barkai-Golan, 1990). Por otro lado, las altas concentraciones de CO₂ tienen un efecto inhibitorio del crecimiento micelial y de la germinación de esporas de *B. cinerea*, que es más elevada a bajas temperaturas que a altas. *B. cinerea* se inhibe por concentraciones de CO₂ superiores al 16%.

Ceponis y Kaufman (1968), citados por Ryder (1979a), encontraron que el marchitamiento de las lechugas se reducía por la envoltura en polímeros plásticos. Sin embargo, después de inocular con conidios de *B. cinerea*, la podredumbre ocasionada fue mayor en las lechugas envueltas. Esto tuvo que ser debido a que el alto contenido de HR, dentro del espacio de cabeza del envase, favoreció el desarrollo del hongo; si bien, tuvieron que darse otros factores desencadenantes.

La podredumbre ocasionada por *Sclerotinia* sp. En concreto dos especies: *S. sclerotiorum* y *S. minor*, ocurre generalmente en las partes bajas de las cabezas, al nivel del suelo (Ryall y Lipton 1979; Ryder, 1979a; Dennis, 1987; Lipton y Ryder, 1989). Los tejidos afectados aparecen blandos y luminosos con un color pardo-rosáceo (Ryall y Lipton, 1979). Posteriormente se desarrolla un micelio algodonoso grande que se extiende rápidamente debido a su fuerte actividad, degradando enzimáticamente las paredes de las células vegetales. En estados avanzados, se producen esclerocios negros visibles perfectamente a simple vista. La podredumbre empieza en el campo bajo condiciones húmedas, fundamentalmente entre 21 y 27°C. Se previene por preenfriamiento una vez recolectada (Ryall y Lipton, 1979).

El crecimiento de *S. minor* sólo se ve inhibido en AM o AC, con menos del 4% O₂ en ausencia de CO₂ o con 0,03% de este gas (Imolehin y Grogan, 1980). Por otro lado, a las concentraciones de CO₂ superiores al 8%, manteniendo en todos los casos el O₂ en 21%, inhibió o redujo el desarrollo del micelio y de esclerocios de la especie. En una atmósfera de 19% CO₂ + 2% O₂ se inhibió también la formación de conidios. Esto demuestra, al menos para esta especie, la afirmación general de Hocking (1990), de que las atmósferas con CO₂ son más efectivas para controlar el crecimiento fúngico que aquellas en las que se reduce el O₂ por desplazamiento con N₂ (gas inerte, sin efectos

sobre el desarrollo). Barkai-Golan (1990), encontró que las bajas concentraciones de O₂ inhiben la formación de esclerocios en *S. minor*.

2.7.2.2.15. Daños por acetaldehído

Otra alteración, tan poco descrita como inusual, son los daños ocasionados por acetaldehído (“*acetaldehyde injury*” o “*tan flecking*”) (Stewart *et al.*, 1980). Este desorden es similar a RS en cuanto a morfología. Se necesitan concentraciones superiores al 2% de acetaldehído para que se desencadene la alteración, por lo que aunque las plantas producen esta sustancia volátil en pequeñas cantidades, solamente ocurre cuando se realiza un tratamiento en exceso de acetaldehído exógeno como producto insecticida contra áfidos en campo.

El acetaldehído es un producto habitual del metabolismo vegetal en condiciones anaerobias junto al etanol, pero los niveles necesarios mencionados anteriormente para que se manifieste la alteración durante el almacenamiento, implica que la lechuga afectada sea desechada por características organolépticas inaceptables por la fermentación y desarrollo concomitante de sabores y aromas extraños.

Sus síntomas se han descrito (Stewart *et al.*, 1980) como grandes zonas de color verde oscuro, a veces colapsadas, sobre las hojas y se acompaña por un marchitamiento severo. Frecuentemente, estas áreas necrosadas cubren toda la hoja por ambas caras. Ocasionalmente, las lesiones son relativamente pequeñas y presentan márgenes bien definidos. Todas las capas de células de estas áreas afectadas quedan colapsadas. Generalmente, el daño se presenta sobre toda la hoja envolvente del cogollo, pero puede afectar a unas pocas hojas interiores también, pero nunca del interior del cogollo.

Se ha descrito otra sintomatología, denominado en su conjunto “*tan flecking*”, que se atribuye también a daños ocasionados por el acetaldehído (Stewart *et al.*, 1980). Se caracteriza porque la lechuga presenta numerosas y pequeñas manchas de color pardo cerca de la base de la curvatura del nervio central de las hojas. Estas manchas ocurren primeramente en la cara abaxial de las hojas exteriores del cogollo. El tamaño va de un simple punto hasta 2 mm. A veces se puede confundir con mancha canela. Este síntoma es menos frecuente que el descrito anteriormente.

2.7.3. Factores que influyen el potencial de conservación de la lechuga

La bondad de un tratamiento poscosecha debe ser medida por los parámetros de calidad. Como no todos los productos hortofrutícolas son iguales, lógicamente el comportamiento poscosecha debe ser desigual también y, por supuesto, los parámetros seleccionados de calidad. Estos deben de ser cuidadosamente elegidos respecto al fin que se pretenda para evitar exceso de trabajo y falta de tiempo que pudiera repercutir sobre la fiabilidad de los resultados.

Las labores de selección de variedades, condiciones culturales, manipulación y condiciones de conservación, juegan un papel muy importante en la supervivencia comercial del producto, por ello, es inapropiado generalizar un período de supervivencia general para toda la lechuga.

A veces, no es posible actuar sobre todas las fases del proceso debido a que las empresas trabajan de acuerdo a un sistema rentable establecido, por lo que conviene centrarse en los aspectos poscosecha para conseguir la mejora de la calidad independientemente de los procesos realizados antes de la cosecha, es decir, un proceso general.

De todos los factores comprobados que influyen sobre la calidad de la lechuga en la poscosecha, para el siguiente estudio se han escogido aquellos que se consideran altamente influyentes y que se han clasificado como factores controlables. No obstante, existen una gran cantidad de aspectos que, aunque se consideran influyentes, se han englobado dentro de la categoría de factores incontrolables. Como es natural, el análisis de la varianza puede dar una aproximación de esta clasificación a tenor del valor del residuo.

Los factores que se han propuesto para estudiar su efecto sobre la calidad de la lechuga poscosecha han sido: tipo de almacenamiento, preenfriamiento y tipo de envase plástico. Estos factores son altamente influyentes (Fig. 2-9) y son relativamente fáciles de actuar sobre ellos en caso de intentar una mejora de la calidad independientemente de las condiciones culturales y de manipulación. Los factores controlables no incluyen solo los que se pretenden estudiar su variación, sino también, todos aquellos que conocemos y hemos caracterizado, como puede ser la variedad, fertilización, etc. El modelo general del proceso se esquematiza en la Figura 2-9.

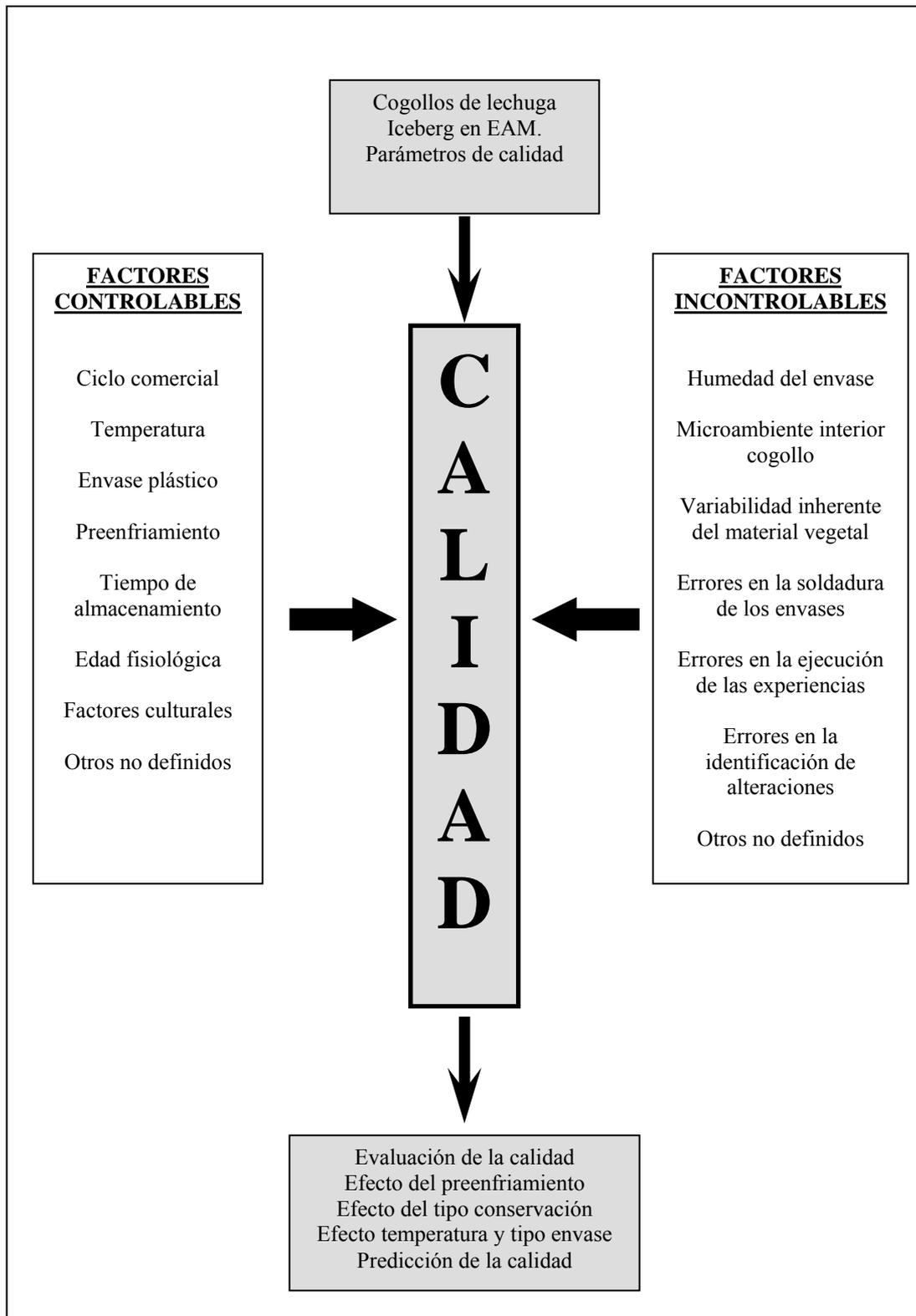


Fig. 2-9. Modelo general del proceso de la conservación de la lechuga Iceberg.

2.7.3.1. Efecto del tipo de almacenamiento

Otro aspecto relacionado con la importancia de la conservación de la lechuga radica en su potencial de conservación, basado en tres conceptos fundamentales: temperatura-tiempo-humedad. La lechuga es un producto perecedero que tiene una vida útil estimada en 1 día a 20°C y 12 días a 0°C (Namesny, 1993). Es por ello, por lo que se debe refrigerar para mantener una calidad aceptable a la temperatura más baja posible por encima del punto de congelación, ya que este producto no es sensible a los DF (daños por frío) (Namesny, 1993) o DBT (daños por bajas temperaturas) (Alique *et al.*, 1987).

De acuerdo con el Instituto Internacional del Frío (IIF, 1967), citado por Maroto (1989), las condiciones óptimas de conservación de la lechuga están en 0°C y 95% de HR. La duración de la conservación se estima viable entre 7 y 21 días y el punto de congelación lo sitúa en -0,5°C. El mismo IIF fijó en 1974 la temperatura de transporte en función de su duración: entre 0 y 6°C para transportes entre 1 a 3 días y de 0 a 2°C para 4 a 6 días.

Antes se ha descrito que la lechuga congela a una temperatura ligeramente inferior a 0°C y sus síntomas (Ryder, 1979a). Una temperatura estable próxima a 0°C podría ser ideal para períodos de conservación prolongados, pero al mismo tiempo, se tiene mayor riesgo de congelación ante las pequeñas oscilaciones de temperatura en el ambiente de almacenamiento. Tradicionalmente en el Campo de Cartagena se exporta la lechuga a una temperatura que ronda los 2°C durante el transporte, por considerarse segura y viable dentro de los contenedores frigoríficos.

En las condiciones recomendadas de tiempo-temperatura, se estima en 6–8 días máximo, el período necesario para que el producto alcance los países europeos de destino desde el Campo de Cartagena. No obstante, la posibilidad de alargar este período a 14 días surge debido a dos factores: por un lado, ampliar a mercados más lejanos y, por otro, estudiar la supervivencia comercial de manera más exhaustiva poniendo de manifiesto los efectos de los tratamientos con mayor rigurosidad.

La realidad del mercado respecto a la temperatura de conservación reside en que una vez en destino, la lechuga se vende en expositores de supermercados en los que la temperatura es más alta que durante el transporte. Esto resulta perjudicial, ya que se acorta considerablemente el potencial de conservación por el aumento de la temperatura, si bien abarata los costes de permanencia del producto en el supermercado. En los expositores, la duración de la estancia es muy variable, desde unas pocas horas, hasta una estancia normal comprendida entre 2 y 3 días, según los gerentes de las empresas, a temperaturas que suelen ser de entre 12 y 20°C. Este incremento en la temperatura hace que desde el momento en que la lechuga es preenfriada hasta que llega al consumidor, pasa por un régimen variable de temperatura que ha sido considerado en el presente estudio.

La transpiración de las frutas y hortalizas conservadas está sujeta a varios factores que se deben controlar en el sentido correcto, con el fin de reducir las pérdidas de agua. Éstas son (Sastry *et al.*, 1978): déficit de presión de vapor de agua, movimiento del aire, respiración, tamaño del producto, forma del producto, área del producto, estructura de la superficie, madurez, pérdida de humedad de los tejidos epidérmicos y

permeabilidad de los tejidos, efectos endotérmicos de la transpiración, efecto de las sustancias disueltas, elevadas tasas iniciales de pérdida de agua, efecto de las semillas de los frutos sobre la transpiración del fruto y otros efectos mencionados menos importantes. En el artículo de referencia se puede ver una extensa descripción de cada uno de estos efectos.

La transpiración o pérdida de humedad de las frutas y hortalizas frescas es un proceso de transferencia de masa en el que el vapor de agua se transfiere desde la superficie del fruto al aire de alrededor (Sastry *et al.*, 1978). La tasa de transpiración de las frutas y hortalizas es uno de los principales factores que afecta a la calidad del producto. Se produce un trasiego constante de humedad desde el producto al exterior sujeto al déficit de presión de vapor de agua. Alguna pérdida de agua es inevitable y puede ser tolerada hasta ciertos extremos. Si se produce una pérdida de agua excesiva puede ocasionar en el producto marchitamiento, modificar el sabor y aroma y una pérdida de calidad. Particularmente, la lechuga presenta un altísimo coeficiente de transpiración valorado en 7.400 mg/(kg·sec·megaPascal) por Sastry *et al.* (1978); esto obliga a extremar las precauciones para evitar la deshidratación. Por tanto, la lechuga debe ser conservada a una HR del 95% o superior, pero si es del 100% (saturada), el problema de podredumbres es mayor que a 95-97% HR, particularmente cuando la temperatura es mayor de 2°C. Entre 0 y 2°C, la HR de 100% sólo puede causar problemas cuando la lechuga es de baja calidad o el lote presenta infecciones latentes de campo (Ryall y Lipton, 1979).

2.7.3.2. Efecto del preenfriamiento

El preenfriamiento bajo vacío fue desarrollado en la década de los años 1940 (Ryder, 1979a), pero fue a partir de 1950 cuando su uso se extendió (Salunkhe y Desai, 1984). Esta técnica se basa en la eliminación del agua de la superficie y de los tejidos superficiales del producto por evaporación, que tiene lugar rápidamente a baja presión de la atmósfera que rodea al producto.

El preenfriamiento o prerrefrigeración (“*vacuum cooling*” o “*vacuum precooling*”), dentro de las técnicas frigoríficas, consiste en hacer descender rápidamente la temperatura de los productos recolectados, hasta unos valores que dependen del propio producto, de la lejanía del mercado, del procedimiento utilizado, etc. y, que en las hortalizas, suelen estar comprendidos entre 2 y 10°C (Ryder, 1979a; Maroto, 1989). La temperatura de prerrefrigeración para la lechuga suele ser de 2°C, a veces se lleva hasta 1°C (Salunkhe y Desai, 1984). Esta última temperatura es la recomendada por Alique *et al.* (1987), en prerrefrigeración bajo vacío porque presenta mayor eficacia en especies con relación superficie/volumen y porosidad elevadas. Lipton y Ryder (1989), sugirieron que el preenfriamiento debería ser lo más cercano posible a 0°C. En las especies foliáceas, inflorescencias y semillas, la temperatura recomendada es 0°C (Alique *et al.*, 1987), porque no suelen ser sensibles a los DF. El período de tiempo para conseguir estas temperaturas bajo vacío varía entre 10 y 35 minutos, dependiendo de la temperatura inicial del producto (Salunkhe y Desai, 1984). Para Lipton y Ryder (1989), lo normal es 25 minutos. Si bien, el efecto de la temperatura inicial del producto antes de realizar el proceso ha sido constatado como influyente en la temperatura final para Maroto (1989), para Barger (1963), éste tiene muy poco efecto o es nulo.

Con el preenfriamiento se pretende disminuir los procesos catabólicos de los productos recolectados lo antes posible, con lo que se alarga el potencial de conservación, disminuyendo las pérdidas de peso y el marchitamiento y, en definitiva, se pretende flexibilizar su comercialización (Lamúa *et al.*, 1984), entre otros. Fue definida como técnica que vaporiza, mediante vacío, parte del agua de constitución del producto, debido a lo cual, éste cede el calor de vaporización disminuyendo su temperatura (Lamúa *et al.*, 1986). Lipton y Ryder (1989), consideran al preenfriamiento de la lechuga como un proceso esencial y rápido en la comercialización. El retraso entre la cosecha y el preenfriamiento no debe exceder de 6 horas en clima cálido.

Los principios físicos básicos de los procesos de preenfriamiento bajo vacío son (Haas y Gur, 1987):

- A la presión atmosférica el agua hierve a 100°C, pero el punto de ebullición cambia en función de la presión absoluta. El agua puede hervir a una presión muy reducida, incluso a 0°C.
- Para cambiar el estado del agua de líquido a vapor, el calor latente de vaporización debe ser proporcionado por el medio de alrededor para que el calor sensible del producto se reduzca y el vapor de agua del producto sea eliminado.

Otra forma más detallada de describir el proceso de enfriamiento bajo vacío es el siguiente: se produce el enfriamiento rápido en un recinto de baja presión, la energía calorífica necesaria para el cambio de fase del agua, de líquido a gas, se extrae de los productos (Liu, 1991), entonces el agua presente en el interior del vegetal, en los intersticios o en la superficie (Lamúa *et al.*, 1986), evapora por la baja presión, lo que provoca un enfriamiento del vegetal (Maroto, 1989), siendo la eficacia mayor en aquellos productos que pueden eliminar fácilmente el agua como son las hortalizas de hoja. De hecho, el proceso se aplicó primeramente a la lechuga (Liu, 1991). El preenfriamiento bajo vacío, es un proceso rápido utilizado también en otros vegetales que tienen un elevado ratio superficie/volumen para permitir una rápida evaporación del agua. El primer prerrefrigerador bajo vacío (“*vacuum cooler*”) comercial se instaló en Salinas, California (EE.UU.) en 1948, y se utiliza como proceso estándar en la manipulación y comercialización de la lechuga en el Campo de Cartagena y en la mayoría de los países europeos (Ryder, 1979a).

Lamúa *et al.* (1986), han realizado una recopilación de factores que influyen sobre la velocidad de preenfriamiento:

- Relación superficie/volumen del producto.
- Facilidad por parte del producto de ceder agua, es decir, de sus disponibilidades de agua en los intersticios de la capa epidérmica, de la porosidad de los tejidos y de la permeabilidad de los tejidos epidérmicos.

En el caso del preenfriamiento de la lechuga, las principales conclusiones de diferentes estudios ha puesto de manifiesto que:

- Friedman (1951), citado por Bolin *et al.* (1977), encontró que el preenfriamiento bajo vacío era beneficioso para la lechuga. Pero Albert-Bernal

et al. (1967) afirmaron que los mejores resultados se obtuvieron con preenfriamiento bajo hielo machacado en las condiciones posteriores de conservación de 9 semanas a 2-3°C. El preenfriamiento por vacío a 5 mmHg dio buenos resultados pero peores que los del hielo.

- En la lechuga, la prerrefrigeración bajo vacío consigue la máxima eficacia descendiendo la presión hasta 4 mmHg, entonces el producto alcanza temperaturas próximas a 0°C entre 20 y 30 minutos con pérdidas de peso del orden del 4%, que puede reducirse por humectación previa del producto (Alique *et al.*, 1987). Antes de proceder a la operación, pueden aplicarse pulverizaciones humedecedoras para mejorar la velocidad de preenfriado y evitar el marchitamiento (ICMSF, 1996). En las empresas de Murcia se realiza el preenfriado con la lechuga dentro de la bolsa macroperforada, de este modo, se evita el marchitamiento también, aunque quizás la temperatura final de preenfriado (3-4°C) no sea la más recomendada (0-1°C). A este respecto, Ryall y Lipton (1979) confirmaron que cuando la lechuga es envasada, los envases deben de ser adecuadamente perforados para permitir la evaporación del agua que se produce en el “*vacuum cooler*”. Los envases de poliestireno permiten una adecuada evaporación sin necesidad de perforación (Ryall y Lipton, 1979). Otros tipos de envases plásticos retardan el enfriamiento al impedir el movimiento normal del vapor de agua. Para Lamúa *et al.* (1986), en vegetales de hoja es común una pérdida de 1% o más del peso original. Sin embargo, estas pérdidas se distribuyen tan uniformemente sobre la superficie del producto, que no se presenta marchitamiento. De todas maneras, como se ha mencionado, una pequeña cantidad de agua asperjada ayuda a reducir las pérdidas de agua durante el proceso. Con el sistema denominado “*hydro-vac*”, se mejora el sistema de “*vacuum-cooling*” al descender de forma importante las pérdidas de peso (Lamúa *et al.*, 1986). Lipton y Ryder (1989), estimaron una pérdida de peso del 0,18% por cada grado de enfriamiento de la lechuga, de manera que las pérdidas de agua pueden llegar incluso al 5%, pero no se produce marchitamiento debido a la distribución uniforme por los tejidos al evaporarse el agua.

- El marchitamiento se hace patente en la lechuga cuando las pérdidas de peso superan el 5% del peso inicial (Ryall y Lipton, 1979). Haas y Gur (1987), expusieron que la cantidad del agua evaporada de los vegetales está comprendida entre el 1 y 4% de peso, dependiendo de la temperatura inicial del producto. Esta deshidratación no es un problema grave ya que, como se ha mencionado, se distribuye homogéneamente en el producto. A modo de ejemplo, las pérdidas de peso obtenidas por Barger (1963) tras realizar el preenfriamiento bajo vacío de la lechuga llegaron hasta el 4,2% al cabo de 30 minutos, pero fueron solo del 2,6% tras 10 minutos. Sin embargo, la reducción de la temperatura comparando los dos tiempos del proceso no fue muy elevada (reducción a 5°C durante 10 minutos y a 2,8°C durante 30 minutos), por lo que recomendó para la lechuga un preenfriamiento de 30 minutos.

- La compacidad de las cabezas de lechuga no tienen un influencia significativa en el grado de enfriamiento, aunque las cabezas firmes se enfrían suavemente más (1°C) que las duras bajo las mismas condiciones (Ryall y Lipton, 1979).

Por otro lado, los efectos beneficiosos del preenfriamiento con mayor aplicación a la lechuga son, según Liu (1991); Lamúa *et al.* (1984); ICMSF (1996):

- Disminuye la velocidad de respiración y los cambios bioquímicos relacionados con este proceso que conllevan a un deterioro de la calidad y la senescencia.
- Disminuye la velocidad de transpiración y pérdida de agua, ya que al reducir la temperatura por el preenfriamiento, la presión de vapor del producto también disminuye. Esto a su vez disminuye el gradiente en la presión de vapor entre el producto y su atmósfera circundante.
- La velocidad de producción de etileno y la sensibilidad de del producto a este gas disminuye a medida que el producto se enfría.
- Reduce las infecciones microbianas y el crecimiento de microorganismos. Concretamente, el preenfriado evita o disminuye las podredumbres ocasionadas por *Sclerotinia* sp., *Alternaria* sp. y *Bremia lactucae* (ICMSF, 1996).

2.7.3.3. Efecto del tipo de envase plástico

La envoltura de los productos hortofrutícolas en polímeros plásticos empezó a ser común a mediados de los años 1940, especialmente en los supermercados (Janick, 1979b) y, para la lechuga, a mediados de la década de 1960. El efecto más claro del envasado de la lechuga reside en la reducción de las pérdidas de peso, pero existe un mayor riesgo de aparición de podredumbres (Janick, 1979b). A pesar de ello, la envoltura plástica con diferentes polímeros, constituye en la actualidad un axioma dentro de la comercialización de la lechuga por las razones ya comentadas. Su utilización en la lechuga se basa fundamentalmente en la protección sanitaria del vegetal y en el mantenimiento de un ambiente húmedo que dificulte la transpiración. En el operativo actual, es un componente fundamental para el mantenimiento de la calidad de la lechuga junto a la temperatura de almacenamiento y el preenfriamiento. A este respecto, es bueno hacer hincapié en que uno de los objetivos de este trabajo está enfocado en optimizar un nuevo proceso beneficioso en la conservación de la lechuga actuando sobre los envases plásticos, no utilizado exclusivamente para mantener la higiene y la humedad, sino también para conseguir las AM de los gases respiratorios adecuadas y preservar mejor la calidad y evitar ciertos desórdenes. Para ello se han introducido los plásticos no perforados dotados de permeabilidad selectiva.

2.7.3.4. Efecto de la variedad o ciclo

Existe una respuesta diferencial de la variedad o ciclo dentro de la lechuga Iceberg en lo referente a su comportamiento poscosecha al aplicar los conceptos básicos anteriormente expuestos, es decir, la refrigeración, preenfriamiento y el envase plástico, por la propia variabilidad del material vegetal. No obstante, constituye una carencia de operatividad comercial el tener que cambiar los sistemas de manipulación y conservación dependiendo de la variedad que se está manipulando o almacenando. Este hecho obliga al departamento comercial de las empresas a buscar una solución global que permita ofrecer la mayor calidad posible del producto al consumidor, en tanto que

la lechuga Iceberg constituye un único producto independientemente de la variedad comercial o ciclo, teniendo en cuenta, además, que el consumidor no va generalmente a distinguir o exigir entre variedades. Esta consideración obliga a orientar la investigación al campo, es decir, a conseguir variedades resistentes a las enfermedades o alteraciones frecuentes y que causan las mayores pérdidas económicas y, a partir de aquí, valorar su comportamiento poscosecha. De esta manera se está actuando ampliamente en la consecución de variedades resistentes a virosis, podredumbres fúngicas, al espigado, a mancha canela, etc. La respuesta de los tratamientos a las nuevas variedades dependerá de la mayor o menor susceptibilidad de éstas a las alteraciones, siendo el objetivo de este trabajo exclusivamente centrar los efectos de los tratamientos mencionados en variedades típicas o representativas en la zona de cultivo estudiada. La solución se tendrá que uniformar lo máximo posible con el fin de obtener un único proceso comercial de manipulación y transporte, o como último caso, reducir al mínimo estos procesos, de tal manera que se pueda dar una única solución a la comercialización de la lechuga Iceberg independientemente de la variedad.

2.8. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La conservación y comercialización de la lechuga Iceberg cosechada y confeccionada en la comarca del Campo de Cartagena en la Región de Murcia presenta en la actualidad los siguientes problemas:

1. Si bien el producto llega a los mercados, generalmente europeos, en un estado aceptable de calidad, en numerosas ocasiones ocurren alteraciones durante tránsito y en destino que lo hacen no apto para su venta o, si bien apto, llega con numerosas pérdidas, por lo que la calidad se puede mejorar.
2. Una vez que los cogollos de lechuga se comercializan en envase plástico individual, es natural querer beneficiarse del envase en todos sus sentidos, es decir, de las AM. Con el actual polipropileno perforado, la lechuga sólo se beneficia de la modificación de la humedad de su entorno, pero no de la modificación de los gases respiratorios. La sustitución del envase por otro adecuado podría permitir una mayor calidad y supervivencia comercial.
3. A pesar de lo lógico que resulta suponer que el preenfriamiento de la lechuga ayuda a su comercialización y que es beneficioso, se debe considerar el alcance de esta ayuda en las condiciones de transporte y tiempos de conservación operativos en la actualidad y sopesar estos beneficios sobre la calidad frente al gasto energético y de tiempo. El preenfriamiento bajo vacío es muy costoso por tres motivos: el coste del equipo, su consumo energético y su volumen reducido respecto a la cantidad de pallets que una empresa puede confeccionar en un día. Realmente son inexistentes estos estudios para la lechuga en la Región de Murcia. Sin embargo, casi todas las lechugas producidas en EE.UU. son preenfriadas bajo vacío (Ryder, 1979a). Esto constituye, sin duda, el principal argumento en el que se han basado los mercados europeos para promover esta técnica en Europa. Por otra parte, se debe estudiar también el posible efecto negativo del preenfriamiento en la aparición de alteraciones.

Por los citados tres motivos, las experiencias de conservación que se realizan en este estudio pretenden poner de manifiesto estas mejoras evaluando el tipo de envase semipermeable, el período de conservación y el preenfriamiento bajo vacío, con la base de los capítulos anteriores, que permitan corroborar los estudios de modelización y mejorar la conservación de la lechuga durante dos semanas.

3. NUEVO PROTOCOLO DE MEDIDA DE LA PERMEABILIDAD DE GASES A TRAVÉS DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS. APLICACIÓN A LA TÉCNICA DE ENVASADO DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS EN ATMÓSFERA MODIFICADA

3. NUEVO PROTOCOLO DE MEDIDA DE LA PERMEABILIDAD DE GASES A TRAVÉS DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS. APLICACIÓN A LA TÉCNICA DE ENVASADO DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS EN ATMÓSFERA MODIFICADA

RESUMEN. Se ha desarrollado un nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de polímeros plásticos utilizados en la conservación de productos hortofrutícolas frescos a los gases respiratorios (O_2 y CO_2). Este protocolo está basado en el sistema isostático o método de flujo continuo (ISO) y la utilización simultánea del cromatógrafo de gases para el análisis gaseoso. El nuevo método incorpora un manómetro en la célula de permeabilidad para un seguimiento de la presión en la cámara de permeación y para el chequeo de microfugas. Se basa en un desarrollo matemático que reproduce el movimiento de los gases a través del polímero por medio de un gradiente de concentración a ambos lados de la lámina plástica. Se ha medido la permeabilidad por este procedimiento en polímeros típicos de envasado en atmósfera modificada, esto es, PVC, polietileno de baja densidad y polipropilenos estándar, cast y biorientado. Los resultados han arrojado valores como los obtenidos por otros autores y métodos variados. No obstante, se ha comprobado una elevada variabilidad de la permeabilidad en las muestras dentro de un mismo tipo de polímero, observación que se ha achacado principalmente a la enorme variabilidad existente en la composición química precisa de cada material. Esta dispersión es comparable con los resultados obtenidos por el uso de otros métodos y sistemas establecidos.

ABSTRACT. It has been developed a new protocol for determining gas (O_2 and CO_2) permeability through some films commonly used in fresh fruit and vegetables storage. This protocol is based on the isostatic system or continuous flow method (ISO) together a gas chromatograph for measuring the gas samples. The new method incorporates a manometer in the permeability cell in order to measure the pressure inside the cell and to check the possible gas leak. The method is based on mathematical model about gas movement through films obtained from a gradient of gas concentration between both sides of polymer. It has been measured the gas permeability of PVC, low density polyethylene (LDPE), standard, cast and bioriented polypropylene. The results obtained were according to other authors and different systems. However, it was stated a high variability in gas permeability for the same film. This observation was principally attributed to some differences in the precise chemical composition among samples. This dispersion among values is compared to other results and methods described in the literature.

3.1. INTRODUCCIÓN

3.1.1. Los envases plásticos en la comercialización hortofrutícola

Un plástico, polímero plástico, polímero, film, membrana, membrana plástica son diferentes términos que acuñan la misma definición, es decir, polímeros orgánicos que se diferencian entre ellos por la estructura de sus moléculas, composición química y propiedades físicas (Harris, 1960).

El EAM de productos hortofrutícolas utilizando estos polímeros pretende extender la vida comercial del producto y, al mismo tiempo, dotarlo de valor añadido por mejora de su presentación. No obstante, es fundamental tener en cuenta que el producto envasado está vivo y, por tanto, respira absorbiendo O₂ y emitiendo CO₂ al espacio de cabeza del envase. Para no agotar todo el O₂ de este espacio y que se generen condiciones anaerobias, entre otras alteraciones, es necesario que este envase sea una membrana semipermeable al intercambio gaseoso con el medio externo o bien que presente macroperforaciones de libre intercambio gaseoso.

El estudio de las propiedades de permeabilidad es fundamental para prever las atmósferas que se pueden obtener cuando el plástico es utilizado para almacenar productos naturales vivos que presentan tasa respiratoria. En particular, las propiedades de transmisión de un plástico al CO₂ y O₂, junto a la permeabilidad al vapor de agua y a volátiles son propiedades fundamentales para estimar los posibles efectos de un determinado plástico sobre el producto conservado (Debeaufort y Voilley, 1994; Kobayashi *et al.*, 1995). Estas propiedades permiten realizar diseños de envases que deben ser utilizados prudentemente debido a las variaciones de permeabilidad dentro de un mismo tipo de plástico (Karel *et al.*, 1963; Cameron *et al.*, 1995).

Durante los últimos años, se ha incrementado el interés en el uso de polímeros plásticos para el envasado de frutas y hortalizas en fresco. Esto se ha debido a los grandes avances que se han obtenido en la manufacturación de películas plásticas, con un amplio rango en las características de difusión a los diferentes gases. Sin embargo, aunque existe una gran variedad de envases disponibles en el mercado, son pocos los que se han utilizado en productos hortícolas que presenten características favorables para crear una AM (González *et al.*, 1998).

La determinación de la permeabilidad gaseosa de los polímeros parece un problema relativamente sencillo, pero en realidad es bastante complejo y, por tanto, es normal obtener resultados desvirtuados por errores sistemáticos no detectados (Major y Kammermeyer, 1963). La gran variedad de equipos propuestos para esta medida confirma el disgusto existente. No existe una técnica estándar universal para determinar la permeabilidad de los polímeros, incluso aún cuando se ofrecen los valores de permeabilidad, no siempre está clara su aplicación a las características especiales que se dan en las condiciones de los envases, principalmente porque la permeabilidad se puede alterar por la presencia de pequeñas regiones mal soldadas, pinturas o condensaciones de vapor de agua. De esta manera, existe el eterno problema de la variación de la permeabilidad dentro del mismo polímero, especialmente entre tandas de fabricación, incluso en películas de estructuras perfectamente conocidas como es el polietileno de baja densidad (Cameron *et al.*, 1995). A modo de justificación, se puede observar la extraordinaria variación existente en valores de permeabilidad dentro de un mismo tipo de polímero (Tabla 3-2); incluso a veces, los valores no son muy coherentes entre los reportados por diversos autores.

La permeación de un gas a través de una membrana polimérica tiene lugar en tres etapas: la disolución del gas en la interfase membrana-disolución, la difusión del gas a través de la membrana y la aparición del gas en la interfase opuesta de menor concentración (Lebovite, 1966; Ibáñez, 1989; Sperling, 1992; Artés, 1993).

La evaluación de las propiedades barrera de un envase es un requerimiento para una adecuada selección del polímero y diseño del envase para un determinado producto (Catalá y Gavara, 1996). Estos autores afirmaron que con el objeto de caracterizar completamente las propiedades de permación de un polímero es necesario obtener al menos dos de los tres coeficientes que la describan (Crank, 1975, citado por Catalá y Gavara, 1996): permeabilidad (P), difusividad o coeficiente de difusión (D) y solubilidad (S). Guo *et al.* (1995), afirmaron que también es necesario el “*break through times*” (BRT), definido como el tiempo necesario para que los primeros 1×10^{-5} g se solvente se evaporen hacia el exterior de la membrana o polímero de 0,75 mm de espesor (Guo *et al.*, 1995).

En términos prácticos, la mejor manera de expresar las características de barrera de un polímero es a través de la permeabilidad o velocidad de permeación (Catalá y Gavara, 1996). Aunque los polímeros plásticos cuentan con otras propiedades no menos importantes además de la permeación, esta última es esencial para el estudio y se relaciona indirectamente con las demás, como se ha argumentado anteriormente.

El proceso de permeación de un gas a través de una membrana polimérica puede ser definido, en términos matemáticos, mediante la ley de Fick (ecuación 3-1) cuando el equilibrio ha sido alcanzado, es decir, el gas permea a través de la membrana (polímero plástico que en este caso actúa como una membrana) a una tasa constante mantenida por la diferente presión parcial del gas a cada lado de la membrana (Lefaux, 1968; Ibáñez, 1989; Moyls *et al.*, 1992; Sperling, 1992; Artés, 1993; Catalá y Gavara, 1996):

$$j_i = -D_i \cdot \frac{dC_i}{dx} \quad (3-1)$$

donde,

j_i , es el flujo local del componente i en la membrana.

D_i , coeficiente de difusión (que exhibe un valor prácticamente constante).

C_i , concentración de gas disuelto en la membrana.

x , la dirección normal a la membrana.

La concentración del componente i del gas disuelto en las interfases puede relacionarse con la presión parcial, P_i , mediante la ley de Henry (ecuación 3-2). La constante de difusión es independiente de la concentración (Lefaux, 1968).

$$C_i = k_i \cdot P_i \quad (3-2)$$

siendo k_i el coeficiente de solubilidad del gas.

De las dos ecuaciones anteriores, integrando sobre la membrana se sigue (3-3)

$$j_i = \frac{D_i \cdot k_i \cdot (P_i' - P_i'')}{\Delta x} \quad (3-3)$$

siendo,

Δx , espesor de la membrana.

P'_i y P''_i , las presiones parciales a uno y a otro lado de la membrana.

3.1.2. Métodos de medida de la permeación

Las técnicas de medida de permeación son muy variadas.

Artés (1993), recopiló los principios clásicos de determinación. Estos son:

- Determinación de presión a volumen constante.
- Determinación de volumen a presión constante.
- Análisis químico cuantitativo.
- Cromatografía en fase gaseosa.
- Espectrofotometría de masa.
- Otros específicos.

La mayoría de los métodos de determinar la permeabilidad suponen la medida de la velocidad de transmisión del compuesto permeante a través de una membrana polimérica que forma una partición entre dos cámaras, una de las cuales inicialmente está libre del compuesto penetrante. En el caso de un gas, la velocidad de transmisión se determina corrientemente siguiendo el aumento de presión en una cámara receptora de volumen constante, o siguiendo el aumento de volumen en una cámara receptora mantenida a presión constante, o por una combinación de ambas (Lebovite, 1966).

Aunque existen bastantes procedimientos para determinar la permeación, todos ellos están basados en dos métodos conocidos: isostático o método de flujo continuo (ISO) y el método cuasi-isostático (QISO) (Hernández *et al.*, 1986, citados por Catalá y Gavara, 1996). El diseño experimental y equipamiento necesario son muy similares. Ambos usan una célula de permeación con dos cámaras separadas por la probeta o membrana. En una de las cámaras se genera una alta concentración del permeante (HCC), entonces el permeante fluye hacia la otra cámara (LCC) que presenta una concentración menor. Las moléculas permeantes que penetran en la LCC deben ser purgadas de la cámara por medio de una corriente de gas inerte manteniendo la concentración de permeante a cero (método ISO). Si las moléculas de permeante se acumulan en la LCC corresponde al método QISO.

Se han realizado diversas modificaciones o correcciones del mismo principio. Una de ellas fue la propuesta por Karel *et al.* (1963), en la cual aplicaron el cromatógrafo de gases al análisis de permeación normal al O₂ y CO₂ para la medida de la permeabilidad de diversos polímeros destinados al uso alimentario. La aplicación de la célula de permeación al cromatógrafo de gases ofreció, según estos investigadores, las siguientes ventajas:

- Mayor versatilidad y exactitud.
- Posibilidad de muestras repetidas de gases en la célula de permeación.
- Posibilidad de determinar el tiempo necesario para establecerse las condiciones de equilibrio para el trasiego de gases.
- Incremento de la sensibilidad y rapidez de la determinación.

Otra ventaja importante es que la permeabilidad de un polímero plástico al O₂, CO₂ o N₂, no se modifica generalmente por la presencia de otro gas, lo que constituye un factor fundamental a la hora de la elección del sistema de medida de la permeabilidad (Debeaufort y Voilley, 1994; Romojaro *et al.*, 1996).

Mannapperuma y Singh (1994), describieron un sistema de medida de permeabilidad basado en el mismo principio descrito, pero con tres cámaras en lugar de dos. En una de las cámaras introdujeron O₂, en otra CO₂ y en la central N₂. De esta manera midieron simultáneamente la permeabilidad de los tres gases.

El sistema de determinación de la permeabilidad elaborado para el presente trabajo estuvo basado en el método isostático (sistema ISO), mientras que el análisis de gases se hizo por cromatografía gaseosa con detector de conductividad térmica (TCD). La selección de este método se basó principalmente en los dos argumentos siguientes:

1. Puede ser utilizado con células o aparatos de medida de permeabilidad muy simples que, por otro lado, permiten realizar las mediciones a cualquier temperatura de refrigeración y ambiental, aspecto fundamental para un estudio de adecuación del envase a productos hortofrutícolas refrigerados.
2. El sistema permite medir la permeabilidad de varios gases al mismo tiempo, por lo que ahorra tiempo y permite medir la permeabilidad de forma simultánea en una mezcla de gases, es decir, en condiciones reales dentro de un envase.

De acuerdo con estos argumentos se describe a continuación el desarrollo matemático del método de permeabilidad seguido.

3.1.3. Determinación de la permeabilidad de polímeros plásticos a los gases respiratorios por el método isostático (ISO) y análisis por cromatografía gaseosa

El método se basa en el anteriormente descrito del incremento de la concentración (Karel *et al.*, 1963). Fue desarrollado matemáticamente por Lefaux (1968) y validado por Moyls *et al.* (1992) y en el presente estudio hemos desarrollado una variante que se expone a continuación. Este sistema mide la cantidad de gas que difunde a través de una muestra de polímero bajo una presión diferencial total nula y parcial atmosférica a través de la probeta. La cantidad de gas difundido es valorado por un análisis gaseoso por cromatografía de una muestra aislada de la célula de permeación. Inicialmente, antes de la corrección de Moyls *et al.* (1992), este compartimiento estaba libre del gas permeante, por tanto el incremento de concentración en esta cámara se debe al trasiego del gas permeante.

El desarrollo matemático del método isostático ofrecido por Moyls *et al.* (1992) para el O₂ se secuencia a continuación (de forma análoga se puede aplicar para el movimiento del CO₂):

La permeabilidad puede ser expresada como el producto de la solubilidad por la difusividad (ecuación 3-4):

$$Perm = \tau \bullet D \quad (3-4)$$

donde,

P , permeabilidad del plástico al gas problema [cm^2/h].

τ , solubilidad del gas en el plástico [g/g].

D , coeficiente de difusión del gas en el plástico [cm^2/h].

La ecuación 3-4 conduce a una modificación en la ecuación de difusión de Fick (Lefaux, 1968; Moyls *et al.*, 1992), que describe todo el proceso como (ecuación 3-5):

$$\frac{dm}{dt} = -Perm \bullet A \bullet \frac{d\rho}{dx} \quad (3-5)$$

donde,

m , masa de gas en la célula [g].

t , tiempo [h].

A , área del plástico [cm^2].

ρ , densidad del gas [g/mL].

x , espesor del plástico [cm].

La ecuación de los gases ideales ($\rho = P/RT$) puede ser utilizada a temperatura constante para obtener la siguiente transformación (ecuación 3-6):

$$\frac{d\rho}{dx} = \frac{P - P_a}{\Delta x \bullet R \bullet T} \quad (3-6)$$

donde,

P , presión parcial del gas en la célula [atm].

P_a , presión parcial del aire [atm].

R , constante para un gas específico [$\text{mL} \bullet \text{atm}/(\text{g} \bullet \text{K})$].

T , temperatura [K].

Por lo tanto la ecuación 3-5 se puede transformar en (ecuación 3-7):

$$\frac{dm}{dt} = \left(\frac{-Perm}{\Delta x} \right) \bullet \left(\frac{A}{R \bullet T} \right) \bullet (P - P_a) \quad (\text{g/h}) \quad (3-7)$$

Si la permeabilidad se divide por el espesor, se obtiene la velocidad de transmisión del gas a través del plástico [$(\text{mL}/(\text{cm} \bullet \text{h}))$], o (ecuación 3-8):

$$Trans = \frac{Perm}{\Delta x} \quad (3-8)$$

Dentro de la célula, el porcentaje de variación de PO_2 está también relacionado con el flujo másico de O_2 (dm/dt) (ecuación 3-9):

$$P = \rho \bullet R \bullet T = \frac{m}{v}(R \bullet T) \quad (3-9)$$

siendo v el volumen de la célula.

Derivando P respecto al tiempo en (3-9) se obtiene (ecuación 3-10):

$$\frac{dP}{dt} = \left(\frac{R \bullet T}{V} \right) \bullet \left(\frac{dm}{dt} \right) \quad (3-10)$$

o también (ecuación 3-11),

$$\frac{dm}{dt} = \left(\frac{V}{R \bullet T} \right) \bullet \left(\frac{dP}{dt} \right) \quad (3-11)$$

Las ecuaciones 3-7 y 3-11 dan (ecuación 3-12):

$$\frac{dP}{dt} = -Trans \frac{A}{V} \bullet (P - P_a) \quad (3-12)$$

Si designamos $P - P_a = \Delta P$, e inicialmente $P_o - P_a = \Delta P_o$, entonces la ecuación 3-12 se puede simplificar a (ecuación 3-13):

$$\Delta P = \Delta P_o \bullet e^{-(Trans \ A/V) \bullet t} \quad (3-13)$$

donde,

ΔP , diferencia entre la presión parcial del gas dentro de la célula y la del ambiente (atm).

P_o , presión parcial inicial del gas en la célula (atm).

Tomando logaritmos en los dos términos de la ecuación 3-13, obtenemos (ecuación 3-14):

$$\ln \left(\frac{\Delta P}{\Delta P_o} \right) = - \left(Trans \frac{A}{V} \right) t \quad (3-14)$$

Las series de medidas de PO_2 son tomadas como $\ln (\Delta P/\Delta P_o)$ frente al tiempo t (1/h), y la pendiente “ S ” se obtiene a partir de una regresión lineal por mínimos cuadrados a través de los puntos. “ S ” se puede definir como la constante de la caída exponencial de la diferencia de presiones parciales a través del plástico, y la define el proceso de difusión de la célula. Por tanto (ecuación 3-15):

$$S = - \left(Trans \frac{A}{V} \right) \quad (3-15)$$

da el porcentaje de transmisión del plástico como (ecuación 3-16):

$$Trans = - \frac{S \bullet V}{A} \quad [(mL/(cm^2 \bullet h))] \quad (3-16)$$

o lo que es lo mismo, en unidades más comunes (ecuación 3-17):

$$Trans = -240.000 \left(\frac{S \cdot V}{A} \right) \quad [(\text{mL}/(\text{m}^2 \cdot \text{día})] \quad (3-17)$$

3.1.4. Procedimiento

3.1.4.1. Instrumental y análisis de permeación

Como se ha comentado en el apartado anterior, los aparatos para determinar la permeabilidad a los gases por el método isostático son variados en diseño, pero en el fundamento son muy similares. Todos ellos constan de dos o tres cámaras separadas sólo por la probeta de plástico y a presión atmosférica (Moyle *et al.*, 1992). Deben ser fáciles de manejar, precisos, dar resultados reproducibles, ser rápidos e incluso económicos (Stocker, 1963). Estos condicionantes lo suelen cumplir los aparatos o células que miden la permeabilidad por medio del sistema isostático. De esta manera, la transmisión de gas a través del polímero depende de la diferencia de presiones parciales en cada una de las caras de la película y no de la diferencia de presiones totales. Por este método se puede medir la permeabilidad de un gas en presencia de otros gases o vapores (Stocker, 1963).

La célula estática representada en conjunto o en partes en las Figs. 3-1, 3-2 y 3-3 constituye un sistema alternativo para la medida de la variación exponencial de las concentraciones de un gas a volumen constante de medida de permeabilidad. No es cara de fabricar, no da problemas de condensación y proporciona unos porcentajes de transmisión exactos para el CO₂ y O₂ simultáneamente, con la utilización de un cromatógrafo de gases.



Fig. 3-1. Células estancas de permeabilidad dotadas de manómetro.

Las células utilizadas en el presente experimento se denominan células o celdas de permeación (“*permeation cell*”) y fueron fabricadas por Kesslan Tool & MFG Corporation, New Jersey, EE.UU. Las células de permeación de este tipo o similares han sido utilizadas por diversos investigadores con gran cantidad de variantes (Evelo, 1993; Kobayashi *et al.*, 1995; Wong *et al.*, 1996).

Las células están diseñadas para poder utilizar múltiples variaciones de la medición de la permeabilidad. Para el método y modificación utilizada por nosotros se acopló un manómetro digital en unas de las tuercas de la cámara inferior que contiene la mezcla gaseosa problema. Los manómetros fueron del tipo Pascolo clase 0,1-protección IP 68 de Keller® ISO 9001. El rango de medida de este manómetro es de -1 a 2 bares, la resolución es de 1 mbar y la precisión, entre 0 y 50°C, es de 2 mbar (típica) y 5 mbar (máxima). Estas especificaciones se escogieron debido a las ligerísimas variaciones de presión que pueden existir en el interior de la célula durante la permeación. El manómetro, por otro lado, fue utilizado para comprobar la presencia de fugas y microfugas en la célula una vez preparada para iniciar el experimento. Es preciso el uso de otro manómetro del mismo modelo en el exterior de la célula, para corregir las variaciones en la presión atmosférica.

La célula estática se compone de tres discos superpuestos (Fig. 3-1) aunque a efectos del protocolo de medidas sólo se consideran dos de ellos (Figs. 3-2 y 3-3). Cada disco presenta un determinado volumen, aunque en realidad sólo es necesario conocer el volumen de la cámara inferior que se apoya sobre unos soportes o pies sobre la mesa de trabajo. Por el disco o cámara superior pasa constantemente un flujo regulado de aire o N₂ (método ISO) y en la cámara inferior se introduce la mezcla gaseosa deseada a presión atmosférica. En medio de las dos cámaras se sitúa la lámina o probeta de polímero plástico problema.

El análisis de las muestras gaseosas de O₂, CO₂ y N₂ se obtuvo con un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Autosystem dotado de TCD y columnas de Porapak Qs-80/100 de 1,2 m x 1/8 s para la separación y detección del CO₂ y tamiz molecular 13X 12 ft 50/80 mesh para el O₂ y el N₂.

3.1.4.2. Método de incremento de concentración o método isostático. Principales problemas

Una vez introducida una mezcla gaseosa en la cámara inferior de la célula por el procedimiento de mezcla por volumen (Kader, 1985a), se tiene aproximadamente en proporción los siguientes gases 10% O₂ + 10% CO₂ + 80% N₂, mientras que en la cámara superior la mezcla es aire. Por gradiente de concentración, se establece un flujo de CO₂ entre la cámara inferior y la superior, además de un flujo de O₂ entre la cámara superior y la inferior. Consecuencia de ello la atmósfera problema irá paulatinamente enriqueciéndose en O₂ y empobreciendo en CO₂ a una tasa que será proporcional a la permeabilidad del plástico. Como la permeabilidad al CO₂ es siempre más alta que al O₂ y similar esta última a la del N₂ (Moyls *et al.*, 1992), se irá produciendo un ligero descenso de presión, siempre y cuando se coloque una rejilla por debajo del plástico, o vacío si ésta no se pone. Este ligero descenso de presión no supone un elevado error si no se tiene en cuenta en la medida (Moyls *et al.*, 1992), pero es obvio que su medida con el manómetro propuesto en este trabajo se gana en exactitud. De cualquier manera, el uso del manómetro ha sido más útil para comprobar la presencia de fugas (apreciación personal). La rejilla o material similar (disco de bronce poroso; Stocker (1963), o rejilla metálica en este estudio) es de uso común para prevenir distorsiones del plástico y cambios de volumen.

Otro error sistemático que se comete en la medida se da en la toma de muestras necesaria para caracterizar la atmósfera que se va modificando y determinar el valor de permeabilidad. Ésta se hace con una jeringuilla pinchando la célula a través de un septo que queda automáticamente cerrado al extraerla (Karel *et al.*, 1963). El efecto se traduce en una potenciación del descenso de la presión. Comprobamos que realizando extracciones de volúmenes muy pequeños (0,5 mL) en intervalos no muy estrechos (entre 6 y 12 horas dependiendo de la velocidad de permeación), la presión no se modifica sustancialmente y, aunque se modifique, queda caracterizada con el manómetro. Otros autores corrigen la depresión con la introducción del mismo volumen de N₂ u otro gas inerte que se extrae de la muestra (Karel *et al.*, 1963; Moyls *et al.*, 1992).

Se debe tener en cuenta también que el cromatógrafo de gases en las condiciones de medida no separa el Ar del O₂. En cromatografía, este problema se define como una distorsión de la señal producida por una sustancia distinta al analito que se quiere determinar. Estas sustancias se denominan interferentes (Azaustre *et al.*, 2003). Este problema se puede minimizar suponiendo que el Ar fluye a la tasa similar del O₂ (Moyls *et al.*, 1992).

Las medidas de permeabilidad deben ser consideradas después de que se hayan establecido las condiciones de equilibrio. Éstas suelen establecerse de forma rápida, pero a veces, dependiendo del tipo de polímero, llegan a tardar incluso 50 horas, por ejemplo en el polímero denominado Mylar film (Karel *et al.*, 1963). La toma de medidas antes de establecerse las condiciones de equilibrio puede generar errores incluso del 50%.

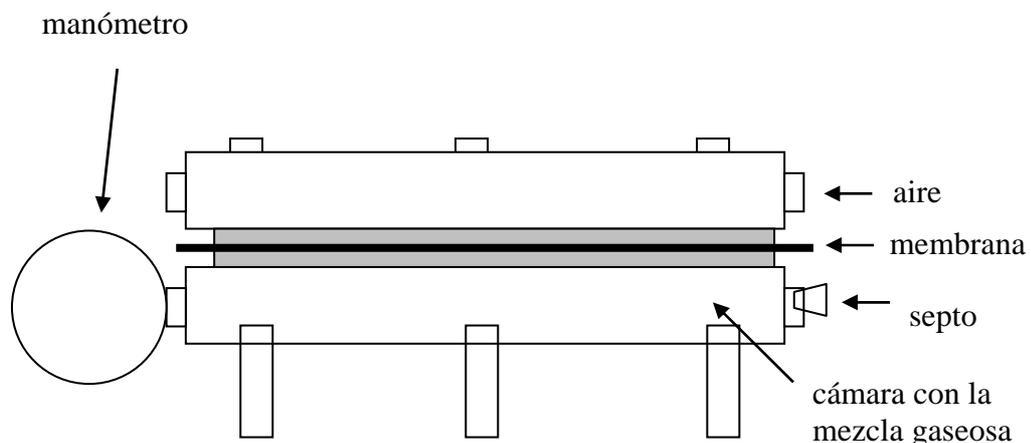


Fig. 3-2. Esquema de una de las células de permeación utilizada en las experiencias (en el dibujo se ha eludido el disco central que sólo repercute en el aumento del volumen de permeación).

3.1.4.3. Nuevo protocolo de las mediciones de permeabilidad

El método de medida de permeabilidad propuesto en el presente estudio toma como base el utilizado por Moyls *et al.* (1992). Por medio de estos procedimientos se

puede determinar simultáneamente la permeabilidad de una lámina fina de polímero al O₂, N₂ y CO₂ a temperaturas comprendidas entre -10 y 120°C.

El sistema de medidas desarrollado es fundamental para determinar la permeabilidad de los polímeros plásticos a temperaturas de refrigeración menores incluso de 5°C, ya que tradicionalmente las características de permeabilidad se ofrecen a una temperatura estándar de 23°C. Por tanto, el aparataje desarrollado durante muchos años no trabaja bien a temperaturas que no sean ambientales. El ejemplo tradicional de este aparataje es el comercializado con la marca Mocon®, que dispone de diferentes aparatos para medir la permeabilidad al O₂ (Ox-Tran 1000 o 100 (este último para medir concentraciones extremadamente bajas de O₂ (Alger y Stanley, 1988) Instrument (Mocon Inc., Minneapolis, EE.UU.)) que opera bajo la norma ASTM D 3985-81 (1988). Para medir la permeabilidad al CO₂ y al vapor de agua se utilizan distintos aparatos denominados Permatran, que trabajan aproximadamente entre 5 y 50°C (Ermecc, Barcelona). Moyls *et al.*, (1992), realizaron un estudio para comparar los valores de permeabilidad de los dos sistemas llegando a la conclusión de que con la célula estática descrita se obtienen mediciones precisas y exactas en un rango amplio de temperaturas, desde 0 a 42°C.

El protocolo desarrollado en el presente trabajo de puesta a punto de las células y de toma de mediciones, fue realizado de forma muy cuidadosa para minimizar los errores sistemáticos que se han comentado en el apartado anterior y que pueden darse con cierta facilidad en este tipo de medida si la célula no queda perfectamente estanca. Este protocolo en detalle, corroborado en algunos aspectos por otros autores y normas, es el que sigue:

1. Se abren las células y se separan los discos o cámaras de que constan cada una de ellas.
2. Se limpian bien, con un paño limpio y húmedo, muy escurrido, todos los componentes de las células. Después se secan bien con papel de filtro o secante.
3. Se unta con grasa de alto vacío cada una de las juntas tóricas o anillos de goma y a continuación se extiende con los dedos sin apretar por toda la goma (DIN 53380, 1969).
4. Se recorta una porción circular de película plástica por célula previamente chequeada (DIN 53380, 1969; ASTM D 1434-82, 1988). No debe tener en toda su superficie arrugas ni perforaciones ni impresiones, por muy pequeñas que sean, y debe ser de espesor homogéneo medido al menos en cinco puntos distintos. Puede ayudar una lupa simple, binocular o incluso un microscopio. La porción circular recortada debe tener un diámetro comprendido entre 76 y 78 mm.
5. Se ensamblan las dos piezas inferiores de la célula y se coloca la película plástica sobre la junta tórica superior del disco intermedio, procurando no tocarla para no mancharla; ésta quedará adherida a la junta tórica por la grasa. Se puede comprobar esta unión porque es bien visible el contacto de la grasa con el plástico. Si alguna zona no queda untada de grasa, se vuelve a añadir a

la junta tórica una pequeña cantidad de grasa. No conviene añadir mucha grasa para que no se extienda por el plástico y disminuya el área de exposición de éste. Llegados a este punto, una modificación del protocolo consiste en colocar sobre la parte superior del disco inferior una rejilla metálica sin tocar la tórica, con el propósito de que el plástico se asiente sobre ella para evitar que se deforme por la tasa de permeación y, por tanto, modifique el volumen de la célula en su parte inferior.

6. Se ensambla el disco superior sobre el plástico y se aprieta cada una de las tres tuercas de cierre al mismo tiempo para un perfecto cerrado, manteniendo al menos un racor abierto a los dos lados del plástico para evitar sobrepresión que se puede producir al comprimirse las juntas tóricas durante el cierre.
7. Se toman dos septos de caucho o silicona con teflón para cromatografía Supelco de 6 mm / 1/4'' y dos tuercas para racor (conector Swagelok (Swagelok Company, EE.UU.) con orificio. Se coloca la cara de teflón (la más dura y fina) hacia dentro, no en contacto con el orificio de la tuerca. A continuación se empuja el septo hasta el fondo y se enrosca cuidadosamente la tuerca con el septo en un racor del disco intermedio.
8. Se cierran con tuercas ciegas todos los demás racor que estén abiertos de la célula, de manera muy cuidadosa, apretando bastante bien. Se chequea que no tenga pérdidas. La norma ASTM D 1434-82 (1988), recomienda detectar las pequeñas pérdidas, que puedan haber, con solución jabonosa (detector de fugas Snoop de Supelco, Inc., EE.UU.), pero en algunos casos la Norma y Cameron *et al.* (1989), entre otros, recomiendan sumergir la célula en agua mientras se aplica presión. Las pérdidas, por muy pequeñas que sean, aparecen de este modo como burbujas de aire. Nosotros proponemos aplicar presión con una jeringa Hamilton de cromatografía, o similar, con aguja de punta biselada con el fin de penetrar óptimamente a través del septo sin agujerearlo, y comprobar una lectura del manómetro acoplado constante durante unas horas, un descenso de la presión indica fuga. La célula así preparada y chequeada ya está lista para iniciar el experimento de permeación.
9. La temperatura de la cámara donde se va a medir la permeabilidad, debe estar fijada de antemano. Si se va a medir la permeabilidad a una temperatura diferente a la ambiental del laboratorio, se mantiene la célula así construida al menos unas 24 horas a la temperatura de medida antes de iniciar el experimento. La probeta debe estar atemperada el mismo tiempo (DIN 53380, 1969). Aunque las ligeras variaciones de temperatura no afectan a la medida debido a que tanto el plástico como el metal de la célula no transfieren rápidamente el calor, es recomendable introducir las células en celdas de aluminio u otro material que las protejan de las ligeras oscilaciones de la temperatura en el interior de la cámara de refrigeración. Es conveniente introducir un termohigrógrafo que registre las variaciones de temperatura y HR durante todo el desarrollo del experimento.
10. Para iniciar el proceso de permeación a través de la película plástica, debemos generar una atmósfera en el interior de la cámara inferior diferente a

la atmósfera presente en la cámara superior (aire) para que se establezca un gradiente de presiones parciales. Tomamos una atmósfera similar a la utilizada en el método de Moyls *et al.*, (1992). Los porcentajes de gases medidos por volumen que deben estar presentes inicialmente en la cámara, son aproximadamente los siguientes: 10-16% CO₂, 10-16% O₂ y resto de N₂. Una variación de esta mezcla es la constituida por Stocker (1963), que contenía una mezcla de gases en la cámara inferior a los cuales se les va a medir la permeabilidad y un barrido de N₂ por la cámara superior a un caudal determinado. Este autor sugiere que el gas del ensayo debe permear por el polímero hasta una concentración del 1%. No obstante, el tiempo de permeación no debe ser excesivo para no provocar “fatiga” del polímero o cambio en las condiciones ambientales (Stocker, 1963). Para generar esta atmósfera hemos comprobado que se debe extraer de la célula completamente montada 30 mL de aire con una jeringuilla de suficiente capacidad. A continuación, se inyecta con la misma jeringuilla 15 mL de CO₂ puro y, después, 15 mL de N₂ puro. La atmósfera dentro de la célula debe contener aproximadamente 13-15% de CO₂ y de O₂.

11. Después de generar esta mezcla en la célula, se extrae una muestra de 0,5 mL transcurridos 15-20 minutos, para la correcta homogeneización de la muestra (Kader, 1985a), y se inyecta en el cromatógrafo de gases. Esta será la atmósfera inicial al comienzo del experimento. Se pueden extraer dos muestras simultáneas de la misma célula, aunque esto provoca una ligera mayor depresión en la cámara por toma de muestras.
12. Se unen las tres células en serie (Figs. 3-1 y 3-3). Para ello, se conecta una válvula de acero inoxidable de regulación de la clase 2 para alta y baja presión (Air Liquide, España o similar) entre la salida del compresor de aire y la primera célula de la serie. El objetivo de esta válvula es regular el caudal de aire de entrada a las células. Las células se unen por medio de gomas y siempre por la cámara superior de la película plástica. Se abren las llaves de la válvula para conseguir un caudal, medido a la salida de la última célula, entre 1-2 L/h. Stocker (1963) puso 25 mL/min para renovar el gas de la cámara de su célula de permeabilidad cada 10 minutos. Las variaciones de caudal no afectan a la medida, a no ser que sean excesivas. El fin principal es mantener una atmósfera de aire por la cámara superior en contacto íntimo con el plástico, debido a que los gases que permearn de la cámara inferior a la superior pueden acumularse ligeramente en la superficie de la probeta y, por tanto, modificar el gradiente de concentración.

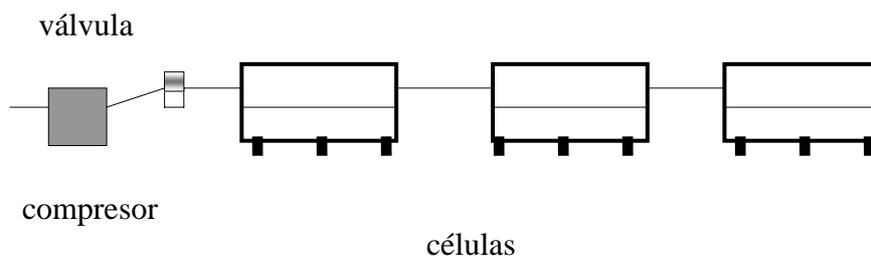


Fig. 3-3. Montaje en serie de las células de permeabilidad.

13. Se toman muestras de 0,5 mL por uno de los racores con septo tantas veces como se crea conveniente: dos o tres al día durante uno a cuatro días, hasta que se alcance una atmósfera claramente distinta a la inicial. Se representan gráficamente en unos ejes cartesianos los porcentajes de CO₂ y de O₂ (eje Y) frente al tiempo en horas (eje X), el resultado pondrá de manifiesto un paulatino descenso del porcentaje de CO₂ y aumento del de O₂ de la atmósfera del interior de la célula. Si se obtiene algún valor ligeramente alejado de esta pauta, se vuelve a extraer una muestra, teniendo en cuenta el tiempo a la que es tomada. Se calculan las presiones parciales de CO₂ y de O₂ mediante la siguiente ecuación 3-18:

$$P_{gas} = \frac{\% \text{ gas}}{100} \cdot P_t \quad (3-18)$$

siendo P_t la presión total [atm] en la cámara inferior de la célula, medido por el manómetro de gases acoplado a la célula y corregido con la presión atmosférica. A continuación se calcula la siguiente expresión para el CO₂ y el O₂ (ecuación 3-19) a cada uno de los tiempos de toma de muestras:

$$\ln \frac{P - P_a}{P_o - P_a} \quad (3-19)$$

siendo,

P , presión parcial del gas (CO₂ o O₂) en la cámara inferior de la célula a un tiempo dado [atm].

P^o , presión parcial del gas al inicio del experimento [atm].

P_a , presión parcial del gas en la cámara superior de la célula (aire) [atm].

14. Se representa en un sistema de ejes cartesianos los puntos obtenidos de valores de la expresión 3-19 para un gas (eje de ordenadas) frente al tiempo expresado en horas (eje de abscisas). Se ajusta una regresión lineal por mínimos cuadrados a través de todos los puntos obtenidos para cada uno de los gases medidos por separado. Los coeficientes de permeación se calculan por la pendiente de la recta en el estado de equilibrio (donde se cumple la ley de Fick) (Alger y Stanley, 1988; Pegoraro *et al.*, 1995; Wong *et al.*, 1996). Entonces, el valor de permeabilidad del plástico se calcula utilizando la ecuación 3-20:

$$P = \text{pendiente} \cdot k \quad (3-20)$$

siendo,

P , permeanza [mL/(m²•día•atm)].

k , constante de célula de permeabilidad igual a 797.172,75.

($k = \text{vol (mL)} \cdot 24 \text{ (h)} / \text{superficie (m}^2\text{)}$).

3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por medio de las células de permeabilidad descritas y el protocolo propuesto, se ha medido la permeabilidad al O₂ y al CO₂ a través de cloruro de polivinilo (PVC), polietileno de baja densidad (LDPE) y los polipropilenos estándar (SPP), cast (CPP) y biorientado (BOPP) de diversos espesores. Se han realizado generalmente tres medidas simultáneas tomadas de cada una de las células conectadas en serie por la parte superior, como se observa en las Figs. 3-1 y 3-3. El número de muestras totales analizadas en varias series fue variable en los distintos plásticos y temperaturas (Tabla 3-1).

Tabla 3-1. Tamaño de la muestra de los diferentes tratamientos en el experimento de medidas de permeabilidad.

T ^a (°C)	SPP	CPP	BOPP	PVC	LDPE
0	-	-	-	2 (1) ^z	8 (3)
2	6 (2)	3 (1)	-	3 (1)	6 (2)
5	-	-	4 (1)	-	-
10	-	-	4 (1)	-	-
12	6 (2)	3 (1)	-	3 (1)	6 (2)
15	-	-	4 (1)	3 (1)	9 (3)
20	6 (2)	2 (1)	-	3 (1)	6 (2)
Total	18	8	12	14	35

^z entre paréntesis se indica el número de series de datos

Diversos investigadores han ofrecido valores medios de los polímeros más tradicionales (Tabla 3-2). La falta de uniformidad en los valores dentro de los mismos tipos de polímeros denota, por un lado, una dificultad clara para obtener estas medidas con un mínimo de exactitud y, por otro, una gran cantidad de factores que influyen sobre la permeabilidad que hace que ésta tome valores muy diferentes en los mismos tipos de polímeros desarrollados por diversos fabricantes. Adicionalmente, se encuentran valores muy dispersos de permeabilidad entre los distintos polímeros utilizados como envases en sistemas de AM. Por ejemplo, la permeabilidad al O₂ del polietileno es de 10 a 15 veces mayor que la del PVC, mientras que para el CO₂ es de 15 veces mayor (Sancho, 1958). Esta variabilidad es necesario conocerla para dotar a cada producto de su envase adecuado.

Las elevadas desviaciones estándar obtenidas en las medidas de permeación (Tablas 3-3 y 3-4) se traducen en un elevado error aleatorio debido probablemente a la heterogeneidad dentro de la misma muestra (bobina de plástico), entre muestras (distintas bobinas del mismo plástico) y la complejidad de la medida en el proceso de permeación. Los errores sistemáticos se redujeron al mínimo haciendo hincapié en mantener las células enteramente estancas y teniendo en cuenta las técnicas necesarias para lograr una correcta homogeneización de las mezclas de gases. Otros autores obtuvieron también una elevada desviación. Moyls *et al.* (1992), presentaron desviaciones de hasta el 6% en las medidas de permeabilidad realizadas tanto con una célula similar de permeación como en el prestigioso aparato de medida SRS Mocon. Por otro lado, en la Norma ASTM D 1434-82 (1988), se citan desviaciones estándar relativas normales inferiores al 12% en polipropileno y 5% en polietileno. Estos hechos

constatan la elevada dispersión encontrada y aceptada en la medida de la permeabilidad independientemente del aparato y sistema utilizado.

Tabla 3-2. Permeabilidades al O₂ y CO₂ de diferentes polímeros plásticos obtenidas por diferentes autores a distintas temperaturas y transformadas para expresarlas en unidades S.I. como [amol/(m•s•Pa)]. Para pasar a unidades métricas multiplicar los valores de la Tabla por 7,725, se obtienen los valores en mL•mil/(m²•día•atm). 1 mil = mm/0,0254.

Plástico	T ^a [°C]	Permeabilidad	Permeabilidad	Referencia
		O ₂	CO ₂	
PP ^z	25	0,48 ^y	1,33	Karel <i>et al.</i> , 1963
PP	31,5	0,31	0,94	Major y Kammermeyer, 1963
PP	25	70,53	282,11	Lebovite, 1966
PP	25	0,70	2,82	Lefaux, 1968
PP	23	0,15 – 0,76	0,92 - 2,51	Hardenburg, 1971
PP	25	0,23	1,16	Artés, 1993
OPP ^x	23	0,00018	0,00052	Gorris y Peppelenbos, 1992
OPP	25	0,21	-	Artés, 1993
OPP	25	0,00013	-	Guilbert <i>et al.</i> , 1996
PE ^w	31,5	0,87	2,97	Major y Kammermeyer, 1963
PE	25	0,33	1,32	Lefaux, 1968
LDPE ^v	23	0,46 – 1,55	0,92 - 9,2	Hardenburg, 1971
LDPE	25	0,00050	0,00247	Moyls <i>et al.</i> , 1992
LDPE	25	0,90	3.407,4	Sperling, 1992
LDPE	23	0,00074	0,00247	Gorris y Peppelenbos, 1992
LDPE	4	0,37	2,48	Exama <i>et al.</i> , 1993
LDPE	25	0,82	4,08	Artés, 1993
LDPE	25	0,00023	-	Catalá y Gavara, 1996
LDPE	25	0,96	0,00042	Mannapperuma <i>et al.</i> , 1994
PVC ^u	31,5	0,42	2,34	Major y Kammermeyer, 1963
PVC	25	11,04	57,04	Lebovite, 1966
PVC	30	0,04	0,31	Lefaux, 1968
PVC	25	0,07 – 0,26	0,50 - 0,96	Kader <i>et al.</i> , 1989
PVC	4	0,70	4,29	Exama <i>et al.</i> , 1993
PVC	25	0,087	0,52	Artés, 1993

^z PP, polipropileno

^y los valores de permeabilidad de los artículos de cada uno de los autores citados han sido transformados a unidades del S.I.

^x OPP, polipropileno orientado (“*oriented polypropylene*”)

^w PE, polietileno

^v LDPE, polietileno de baja densidad (“*low density polyethylene*”)

^u PVC, policloruro de vinilo (“*polyvinyl chloride*”)

La desviación estándar relativa (DER) de los resultados obtenidos en nuestras experiencias fue bastante variable. Osciló entre 0,5% en la permeabilidad al CO₂ a través del PVC de 10 μm medida a 0°C (PVC10 0°C CO₂), hasta 73,4% en la permeabilidad al O₂ en LDPE de 11μm a 0°C (LDPE11 0°C O₂) (datos obtenidos de aplicar la ecuación de la DER a los valores de la Tablas 3-3 y 3-4). Sin duda, las

medidas realizadas sobre BOPP arrojaron el error aleatorio más pequeño, probablemente por una mayor homogeneidad de la composición de la lámina plástica pero, se debe tener también en consideración que en este plástico sólo se analizó una serie de datos de una bobina, por lo que la variabilidad entre series no se contempló. En SPP, la DER osciló entre 1,3 y 38,5%. En CPP entre 3,9 y 38,1. En LDPE entre 1,4 y 73,4, mientras que en PVC esta variación estuvo comprendida entre 0,5 y 30,8.

Tabla 3-3. Valores de permeanza (factor de permeanza) al O₂ (P) [mL/(m²•día•atm)] a diferentes temperaturas de polímeros plásticos seleccionados. Datos obtenidos a partir del protocolo descrito en el presente trabajo.

Plástico y espesor	0°C	2°C	5°C	10°C	12°C	15°C	20°C
SPP 25µm	-	1.063 ^z ± 409	-	-	3.454 ± 46	-	8.333 ± 333
SPP 35µm	-	1.718 ± 357	-	-	2.124 ± 331	-	4.164 ± 647
CPP 20µm	-	1.475 ± 57	-	-	3.162 ± 184	-	7.932 ± 422
BOPP 40µm	-	-	290 ± 14	389 ± 13	-	517 ± 10	-
PVC 10µm	10.473 ± 1.423	7.878 ± 317	-	-	11.280 ± 1.467	28.193 ± 8.684	35.318 ± 4.055
LDPE 11µm	18.734 ± 13.760	11.469 ± 1.994	-	-	37.502 ± 1.664	26.838 ± 10.682	47.411 ± 9.181
LDPE 14µm	6.577 ± 4.002	14.322 ± 4.099	-	-	32.551 ± 15.581	13.711 ± 2.245	30.133 ± 1.704
LDPE 20µm	12.649 ± 4.743	-	-	-	-	24.154 ± 4.467	-

^z media aritmética ± desviación estándar

La DER también varió con el gas que permea. En PVC, LDPE y BOPP, la DER de la medida del O₂ fue mayor generalmente que en la medida de CO₂ (en el 74% de los casos). En CPP fue al contrario, mientras que en SPP no pareció haber diferenciación (valores obtenidos a partir de los valores de permeabilidad tras multiplicar la permeanza por el espesor a partir de las Tablas 3-3 y 3-4). Esta menor dispersión en la medida del CO₂ debe ser debida al menor error en la determinación de este gas por cromatografía gaseosa, ya que en el cromatógrafo de gases no se puede separar el Ar del O₂, por lo que este solapamiento puede contribuir a un ligero mayor error en la determinación de este último gas (Goyette *et al.*, 1994; Christie *et al.*, 1995; Azaustre *et al.*, 2003).

En los casos en los que se obtuvo valores de DER menores al 5%, en los otros dos polímeros mencionados, solamente se realizaron las medidas en una serie de datos.

Tabla 3-4. Valores de permeanza (factor de permeanza) al CO₂ (*P*) [mL/(m²•día•atm)] a diferentes temperaturas de polímeros plásticos seleccionados. Datos obtenidos a partir del protocolo descrito en el presente trabajo.

Plástico y espesor	0°C	2°C	5°C	10°C	12°C	15°C	20°C
SPP 25µm	-	4.650 ^z ± 875	-	-	9.194 ± 806	-	16.667 ± 1.667
SPP 35µm	-	3.668 ± 827	-	-	6.413 ± 618	-	9.008 ± 879
CPP 20µm	-	6.165 ± 996	-	-	8.131 ± 1.730	-	19.092 ± 7.272
BOPP 40µm	-	-	1.112 ± 23	1.410 ± 18	-	1.747 ± 15	-
PVC 10µm	44.084 ± 226	52.906 ± 1.199	-	-	89.685 ± 1.894	83.305 ± 3.305	133.021 ± 4.792
LDPE 11µm	26.758 ± 12.515	28.838 ± 6.069	-	-	56.472 ± 1.473	99.407 ± 5.921	94.279 ± 2.597
LDPE 14µm	20.687 ± 7.497	62.578 ± 9.000	-	-	99.195 ± 10.432	69.141 ± 12.173	130.338 ± 1.885
LDPE 20µm	18.388 ± 4.207	-	-	-	-	69.779 ± 7.735	-

^z media aritmética ± desviación estándar

Es evidente que los mayores valores de dispersión se obtuvieron en los casos donde el análisis de permeabilidad incluyó 2 o 3 series de datos. En el LDPE, el polímero que mayor variación presentó en la medida de la permeabilidad, el coeficiente de variación para el O₂ varió entre los elevados valores de 15 y 78%, mientras que para el CO₂ estuvieron comprendidos entre 19 y 53%. La variación no dependió de la temperatura de medida de la permeación, sino del número de series o bobinas diferentes. La consecuencia de este resultado parece evidente: la permeabilidad varía en el mismo tipo de polímero entre series de datos, es decir, en distintos días de fabricación sobre distintas bobinas. Este resultado repercute negativamente a la hora de caracterizar la permeabilidad de un determinado polímero y, por tanto, en la reproducibilidad de estos valores o, lo que es lo mismo, en la validación de un modelo de permeación en función de la temperatura. Unos de los problemas asociados a los altos errores aleatorios desembocaron en una reducción de la precisión que influye sobre la reproducibilidad del experimento. Como consecuencia, la reproducibilidad de los modelos de envasado de

productos hortofrutícolas con polímeros plásticos que incluyan estos tipos de polímeros se podría ver comprometida.

Frutos (1993), afirmó que para todos los productos alimenticios que no respiran, la permeabilidad debe ser inferior a $10 \text{ mL}/(\text{m}^2 \cdot \text{día} \cdot \text{atm})$. En este momento se debe constatar que aunque en la bibliografía se menciona permeabilidad y permeanza indistintamente, en realidad, los valores dados por Frutos (1993), como por otros muchos autores, corresponden a la permeanza. Los valores inferiores a $10 \text{ mL}/(\text{m}^2 \cdot \text{día} \cdot \text{atm})$ corresponden a valores bajos de permeabilidad, frente a los de alta permeabilidad que suelen poseer los polímeros utilizados en envases para productos que respiran. En general, varios de los polímeros más utilizados de entre los que tienen una alta permeabilidad al O_2 son el LDPE y el PVC (Cameron *et al.*, 1995). De nuestro estudio, se ha podido comprobar también que los polímeros más permeables han sido el PVC y el LDPE (Tablas 3-3 y 3-4).

El presente trabajo fue publicado con la siguiente referencia:

Autores(p.o. de firma): **Martínez, J.A.**, Artés, F.

Título: Nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de gases a través de membranas poliméricas. Aplicación a la técnica de envasado de productos hortofrutícolas en atmósfera modificada.

Tipo de participación: Internet.

Congreso: Tercer Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

Publicación: Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (3º), 2005. ISBN: 84-491-0671-0.

Lugar de celebración: Virtual (internet). www.iberolab.org Fecha: 2005.

4. ADECUACIÓN DE UN SISTEMA DINÁMICO DE MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD RESPIRATORIA A LA LECHUGA ICEBERG

4. ADECUACIÓN DE UN SISTEMA DINÁMICO DE MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD RESPIRATORIA A LA LECHUGA ICEBERG

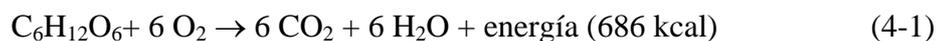
RESUMEN. Se ha estudiado la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg almacenada a temperaturas constantes, comprendidas entre 0 y 20°C, con el fin de comprobar la idoneidad de un sistema dinámico o abierto de flujo de aire de medida de la respiración a este producto. La medida de la actividad respiratoria de un producto vegetal fresco es muy útil, por un lado, porque permite conocer el metabolismo general del producto y, por otro, porque es un dato fundamental para hacer el diseño de envases en el almacenamiento de productos vegetales frescos en atmósfera modificada. El sistema dinámico descrito en el presente estudio ha resultado ser bastante eficaz para medir la actividad respiratoria de la lechuga durante su almacenamiento refrigerado y no refrigerado, obteniendo valores acordes con los de la bibliografía científica. El montaje experimental es simple y requiere el uso concomitante de la cromatografía gaseosa. Un estudio exhaustivo de la respiración utilizando este sistema podrá caracterizar el Q_{10} del proceso respiratorio de la lechuga y modelar su respuesta con la temperatura.

ABSTRACT. Respiration of Iceberg lettuce heads stored at constant temperatures ranged from 0 to 20°C has been studied in order to verify the suitability of a continuous flow-through system to this vegetable. Respiration is a very useful parameter because it permits to know the overall product metabolism. Moreover, it is a fundamental feature in order to design packages for storing fruit and vegetables in modified atmosphere packaging. The flow-through system of respiration described in the present study has turned out to be effective for measuring Iceberg lettuce respiration during both cold and cool storage, and it has been obtained values of respiration according to the scientific bibliography. The experimental set up is simple and needs the gas chromatography to be used at the same time. An exhaustive study of respiration by using this system will permit to obtain the Q_{10} of lettuce respiratory process and modelling the effect of temperature.

4.1. INTRODUCCIÓN Y MÉTODOS

4.1.1. El proceso respiratorio

La respiración se define como el intercambio gaseoso realizado entre las células vivas y el ambiente con el fin de obtener energía para los procesos metabólicos que caracterizan a la vida. Es un proceso bioquímico complejo, muy sensible a la temperatura y, en menor grado, a la composición de la atmósfera alrededor del tejido. El proceso global de la respiración consta de un conjunto de reacciones de oxidorreducción mediante las cuales ciertos compuestos como carbohidratos, grasas, ácidos orgánicos, y más raramente proteínas, son oxidados totalmente hasta CO_2 (Barceló *et al.*, 1998). La ecuación global de la respiración exergónica es bien conocida (ecuación 4-1). Aproximadamente el 42% del total de la energía producida es biológicamente útil, la denominada eficiencia termodinámica, que es atrapada en enlaces de ATP y el resto se disipa en forma de calor (Kader, 1987).



Los tejidos de las plantas consumen O₂ y producen CO₂ de acuerdo con este proceso (ecuación 4-1). Bajo condiciones anaerobias se produce etanol y acetaldehído y la mayoría de los tejidos producen compuestos volátiles en un proceso fermentativo donde el compuesto orgánico no es oxidado completamente a CO₂.

La tasa de respiración o actividad respiratoria se define como la producción de CO₂ (o consumo de O₂) por kg y unidad de tiempo resultado del proceso respiratorio (Yavuzdogan *et al.*, 1998). Esta producción se cuantifica como volumen o masa de gas respiratorio.

No cabe duda del interés científico de la determinación de la actividad respiratoria de un producto vegetal fresco, pues es una medida directa de su actividad metabólica pero, adicionalmente, existe un interés práctico muy importante a la hora de diseñar envases plásticos de permeabilidad selectiva para su utilización en el almacenamiento de productos frescos en AM, ya que la atmósfera generada en el interior del envase es debida, en primer término, a la respiración dependiente de la temperatura y, en segundo, a la velocidad de trasiego de los gases respiratorios o permeabilidad a través del envase (Martínez y Artés, 2005).

El objetivo del presente estudio ha sido caracterizar la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg en el intervalo de temperaturas comprendido entre los 0°C y 20°C durante una serie repetida de experimentos a lo largo de varias campañas, utilizando diferentes series de datos con el fin de aumentar la población. Adicionalmente se ha comprobado la adecuación de un sistema dinámico o abierto de medida de la respiración a la lechuga almacenada en el intervalo de temperaturas mencionado.

4.1.2. Procedimientos para determinar la actividad respiratoria

Los sistemas de determinación de la respiración de vegetales frescos se basan en la medición del consumo de O₂ o en la producción de CO₂. Los montajes de medida utilizados son los mismos si la masa de estos gases se cuantifica por cromatografía gaseosa. Es preferible cuantificar el CO₂ desprendido, ya que la medida del consumo de O₂ es menos precisa y exacta (Saltveit, 1993). En términos estadísticos, el error aleatorio de la medida de los gases de la mezcla ambiental que contiene aproximadamente 21% de O₂ puede ser más elevado que la cantidad de gas generado únicamente por el proceso respiratorio (Kubo *et al.*, 1989).

Las muestras de gases para el análisis pueden ser tomadas de los gases del interior del tejido o de los que rodean al tejido. Lo más sencillo y operativo es tomar la muestra de los gases que rodean al producto. Este sistema constituye la forma más simple y no destructiva de recoger gases. Existe dos maneras básicas para hacer este proceso (Saltveit, 1993): el método estático o cerrado y el método dinámico de flujo continuo o abierto, naturalmente cada uno con sus ventajas e inconvenientes. En el método estático, el tejido vegetal se encuentra en el interior de un recipiente cerrado sólo durante un período de tiempo determinado. Durante este período, los gases respiratorios se modifican en el ambiente del interior del contenedor, fruto del proceso respiratorio en un ambiente cerrado. Entonces, la tasa de producción o consumo de gas puede ser calculada conociendo el peso del tejido vegetal, el volumen del recipiente y la diferencia de concentración del gas antes y después del período de tiempo considerado.

Por medio del sistema dinámico, una mezcla de gas de flujo conocido, normalmente sobrehumidificado, pasa continuamente a través de un recipiente. Después de un período de tiempo, la cantidad de gas producido (CO₂) o consumido (O₂) por el tejido vegetal iguala a la cantidad de gas que fluye a través del recipiente. Cuando este estado de equilibrio es alcanzado, la producción o consumo de gas se puede calcular a partir del peso del tejido, del flujo de aire y de la diferencia de concentración entre el gas que entra y sale del recipiente (Artés, 1976; Mattila *et al.*, 1993; Saltveit, 1993). Este método fue seleccionado para la determinación de la actividad respiratoria de la lechuga, midiendo la producción de CO₂. El montaje experimental utilizado se esquematiza en la Fig. 4-1. En la bibliografía se han descrito otros montajes para medir la actividad respiratoria, entre los que podemos destacar los descritos por Ito *et al.* 1985; Kubo *et al.*, 1990; Piergiovanni y Fava, 1992; de la Plaza, 1993; Bohling y Bauer, 1993, y Beaudry, 1993.

La principal ventaja del sistema estático es que el montaje experimental es muy simple. El tejido vegetal sólo se expone durante poco tiempo a una modificación anormal de los gases en el interior del recipiente producto de la respiración sin ventilación, pero tiene la desventaja de que no se puede utilizar para AC en continuo y durante períodos largos de tiempo. Además, es muy sensible a las pérdidas cuando el sistema no está perfectamente estanco, incluso una pequeña falta de estanqueidad del recipiente puede causar un elevado error sistemático. Todas estas desventajas se pueden solucionar con el uso del sistema dinámico pero, este último, tiene la desventaja de que es más complejo, debe ser puesto en marcha hasta que alcance el equilibrio sin que se pueda realizar toma de medidas fiables hasta que llegue a este punto y, además, se expone a los tejidos a una ligera anormal modificación de la atmósfera mientras dura el experimento. A estos impedimentos expuestos por Saltveit (1993), se debe añadir la dificultad de su utilización en condiciones variables de temperatura.

4.1.3. Material vegetal y diseño de los experimentos

La lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Iceberg) fue cultivada en Torre-Pacheco (Murcia) de acuerdo con las técnicas culturales típicas de la Región Mediterránea para esta hortaliza. Las muestras se tomaron en el momento óptimo de madurez comercial, durante 4 años consecutivos, de cultivos de otoño, invierno y primavera. Por cada cosecha muestreada se midió la respiración a una o varias temperaturas (0, 2, 4, 5, 6, 15 y 20°C). Cada muestreo correspondió a una serie de datos que se visualizan en la Tabla 4-1. A 2°C se hicieron 17 series de datos debido a que esta temperatura es la comúnmente utilizada por las empresas para conservar y transportar la lechuga (Martínez y Artés, 1999).

4.1.4. Material instrumental utilizado para el desarrollo de las experiencias

El montaje consta de un compresor eléctrico (1) (Fig. 4-1) cuya función consiste en proporcionar un flujo de aire continuo que se hace pasar a través de un humidificador o barboteador (2), cuya función es sobrehumidificar el flujo con el fin de reducir al máximo las pérdidas de peso del producto vegetal presente en la cámara respiratoria (5). Seguidamente dicho flujo, mediante una conducción de caucho impermeable, puede tomar dos caminos simultáneos: por un lado hacia una varilla reguladora de presión (3)

sumergida en agua (barostato) y, por otro, hacia un manómetro diferencial de agua (4) compuesto por tres ramas de vidrio conectadas entre sí donde entre las dos primeras se instala un microcapilar (8). Este aparato así montado se denomina permeámetro. La presión del manómetro de tubos que se refleja en el barostato o tubo de agua debe de ser ajustada a 60 cm de profundidad para suministrar una presión de aire constante a los capilares, los cuales han sido previamente calibrados con 60 cm de columna de agua. El permeámetro se debe chequear frecuentemente puesto que el agua se evapora del barostato (Saltveit, 1993). También se ajustó el burbujeo del barostato para impedir que éste sea excesivo, pues contribuye a la rapidez de evaporación y a dificultad de lectura del nivel de agua. El burbujeo se minimiza disminuyendo el caudal de aire que proporciona el compresor con la llave reguladora del mismo. En la Fig. 4-2 se fotografía un montaje de este tipo, donde se puede apreciar especialmente los permeámetros a falta de las cámaras respiratorias.

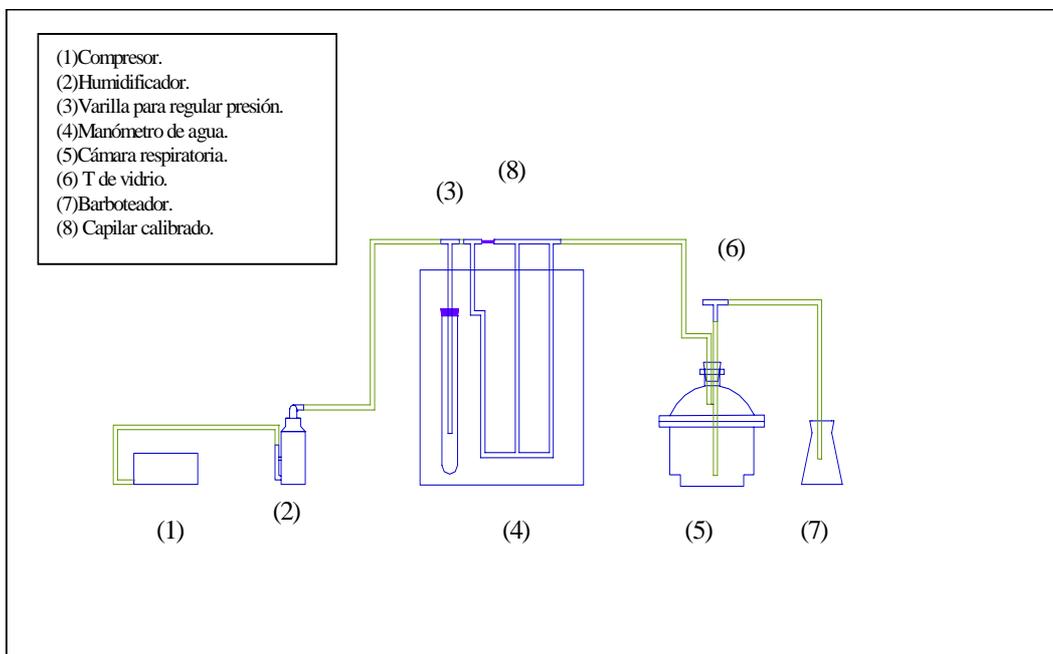


Fig. 4-1. Montaje experimental desarrollado para la determinación de la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg en atmósfera de aire sobrehumidificado basado en un sistema dinámico o abierto de flujo de aire continuo.

Lo descrito hasta ahora tiene como finalidad la producción de una corriente de aire constante cuyo caudal sea lo suficientemente pequeño para que no pueda provocar un excesivo barrido de la cámara respiratoria y así poder medir los gases desprendidos por el producto, pero teniendo en cuenta que el caudal tiene que estar ajustado y equilibrado para que el porcentaje acumulado de CO_2 no exceda de 0,2%, y por tanto, que este gas no inhiba de forma significativa el proceso de respiración. Después del manómetro diferencial de agua, el flujo se dirige hacia la cámara respiratoria o respirómetro (5) donde el producto consumirá oxígeno que le aporta la corriente de aire y desprenderá CO_2 por el proceso respiratorio. Cuando sale el flujo de la cámara respiratoria se dirige hacia una T de conexión de mangueras de vidrio rellena con silicona acética (6), que es el sitio donde se toman las muestras con una jeringuilla hipodérmica o de cromatografía para analizarlas en el cromatógrafo de gases.

Finalmente, el flujo se canaliza hacia un barboteador de agua (7) cuya función es indicar la existencia de flujo continuo mediante un control visual como comprobación de que el sistema está funcionando. Después de un período de tiempo, la cantidad de gas producido o consumido por el tejido dentro del recipiente iguala a la cantidad del flujo del gas a través de éste regulado con el tubo capilar calibrado. Cuando este estado de equilibrio ha sido alcanzado se puede calcular la actividad respiratoria del producto en cualquier momento.

Cuando se inicia un experimento de respiración, se puede observar unos primeros desajustes habituales si las medidas se empiezan a tomar cuando el sistema no está aún en equilibrio. En una segunda fase, se debe observar una gran estabilidad en las mediciones, la actividad respiratoria es constante aunque se puede obtener ligeras variaciones debido al propio error aleatorio de la medida y a otras posibles oscilaciones no controladas (Fig. 4-3). Esta fase, si no ocurre nada anormal y siguiendo el protocolo establecido, está presente a partir del primero o segundo día, o incluso antes, de acuerdo con la ecuación 4-3, y se prolonga hasta la entrada del producto en la fase de senescencia.

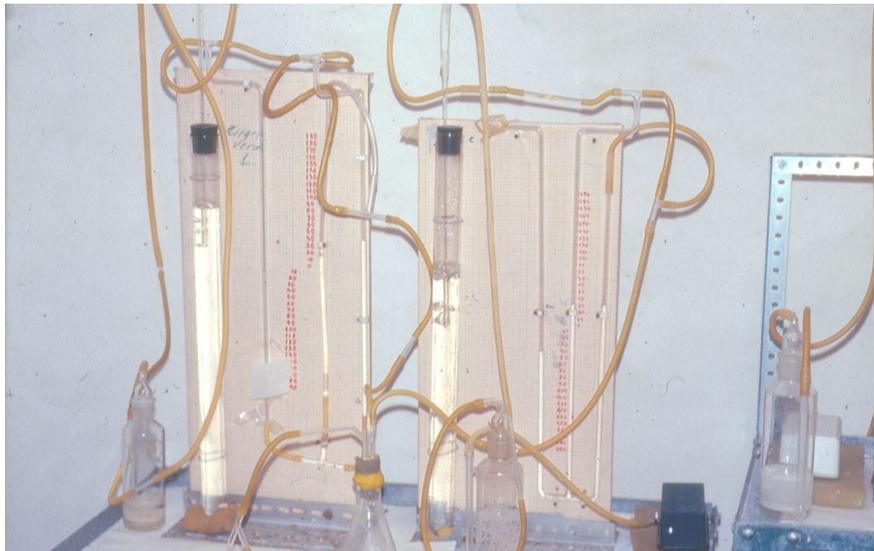


Fig. 4-2. Montaje experimental para la determinación de la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg por medio de un sistema dinámico de flujo de aire continuo.

De cada cámara de respiración o respirómetro se obtenía una serie de medidas repetidas de actividad respiratoria en función del tiempo, tantas como veces como muestras se extrajeron. De esta manera, se podía obtener infinidad de medidas en función exclusivamente del tiempo disponible. En la lechuga, la tasa de respiración se asumió constante (confirmado en nuestros experimentos de escrutinio durante 15 días a 6°C - Fig. 4-3), salvo en prolongados períodos de conservación en los que la tasa tiende a decrecer fruto de la entrada del producto vegetal en senescencia. Para este estudio, se evaluó un sólo valor de cada uno de los respirómetros, obtenido a las 72 horas (Tabla 4-1). Esta única medida se tomó repetidamente a lo largo del día (entre 4 y 6 medidas) y se consideró el valor promedio. La decisión de tomar el valor al tercer día obedece, como se ha comentado, a la pauta de la curva de respiración en función del tiempo,

considerado en estado de equilibrio. Este estado es correcto en un período corto de tiempo, y se romperá a temperatura constante tan pronto como el vegetal entre en estado de senescencia, entre otros muchos factores. Lee *et al.* (1991) en un experimento de diseño similar, tomaron tres medidas de cada réplica (3 réplicas) y la media de las seis medidas es la que utilizaron en los análisis.

Dependiendo del producto, se requiere un determinado flujo de la corriente de aire que pasa por la cámara respiratoria calculado basándose en la máxima concentración de CO₂ que se quiera obtener (en el caso de la lechuga 0,2%) según la respiración estimada (Saltveit, 1993). El flujo se calcula con la ecuación 4-2.

$$F = r \bullet g/2000 \quad (4-2)$$

siendo,

F, el flujo [L/h].

r, la actividad respiratoria estimada (de experimentos de escrutinio o de fuentes bibliográficas) del producto a la temperatura dada [mL CO₂/(kg·h)].

g, es el peso en gramos del producto.

Saltveit (1993), mencionó que la actividad respiratoria promedio de la lechuga a 0°C es de 6,0 mL CO₂/(kg·h), por lo que el flujo estimado [L/h] de acuerdo con esta referencia a diferentes temperaturas es de 1,5-3 L/h a 0°C; 3,8-7,5 a 10°C; 7,6-15 a 20°C y 11,4-22,5 a 30°C. Se asume que la concentración de CO₂ siempre debe de ser menor o igual a 0,2% y que el Q₁₀ de la respiración de la lechuga es de 2,5 entre 0 y 10°C; 2,0 entre 10 y 20°C y 1,5 entre 20 y 30°C. Por tanto, las caudales de los respirómetros se ajustaron a estos valores escogiendo el capilar de caudal adecuado y comprobando el flujo posteriormente.

Para dar paso a que se establezca el equilibrio se requiere un tiempo mínimo durante el cual no se puede tomar medidas puesto que serían valores anómalos. Saltveit (1993), propuso una ecuación para calcular el tiempo de equilibrio en función del flujo y del volumen del recipiente, obteniendo el tiempo requerido para eliminar el 95% de la masa gaseosa original de aire en la cámara de respiración (ecuación 4-3).

$$t = 2,995 (V/F) \quad (4-3)$$

siendo,

t, tiempo [minutos].

V, volumen del recipiente [mL].

F, el flujo [mL/min].

El tamaño del recipiente también juega un papel fundamental. Éste debe de ser elegido de tal manera que contenga el menor espacio libre posible con el fin de evitar el efecto tampón del aire del recipiente que puede atrasar los picos de respiración cuando en realidad han ocurrido anteriormente. El volumen de la cámara respiratoria utilizada por Mattila *et al.* (1993) fue de 6,5 dm³ y la tasa de flujo de la mezcla de gas fue de 1 dm³/h. Todo ello fue encaminado a que la concentración de CO₂ en la cámara no sobrepasara del 2% de CO₂ antes de entrar en la cámara respiratoria. Para alcanzar el

equilibrio, el montaje se dejó preparado y funcionando durante al menos 8 horas. Sekse (1988) consideró 2 horas dentro de la cámara respiratoria para estabilizar la atmósfera con un volumen similar. Talasila *et al.* (1992), esperaron 24 horas para que se alcanzara el equilibrio en un montaje de respiración en AC.

Con todos los requisitos mencionados, el cálculo de la producción de CO₂ está en función del peso de la muestra, flujo y diferencia de concentración del gas a la entrada y salida de la cámara respiratoria (ecuación 4-4).

$$r = [\% \text{CO}_2/100] \cdot [F/w] \quad (4-4)$$

siendo,

r , respiración [mL CO₂/(kg•h)].

F , flujo [mL/h].

w , el peso de la lechuga [kg].

4.1.5. Eventos del cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer Autosystem) para determinar el CO₂ de la respiración

Las condiciones o eventos del cromatógrafo que se ajustaron para tomar las medidas en las diversas experiencias de respiración fueron las siguientes: temperatura del horno: 35°C; temperatura del inyector: 115°C; detector: TCD; temperatura del detector: 150°C; flujo del gas portador (He): 18,4 mL/min; tipo de calibración: patrón externo certificado de 2% de CO₂ y lineal de un sólo punto con origen; tiempo de retención para el CO₂: 1,24 min; columna: Porapak-Qs-80/100 de 1,2 m x 1/8s; volumen de muestra inyectada: 1 mL.

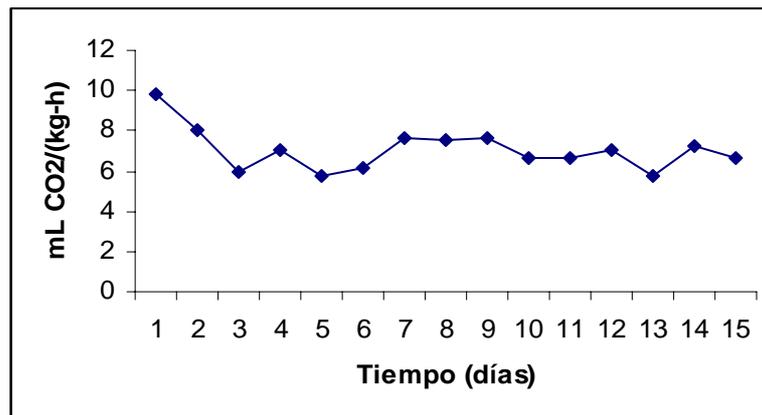


Fig. 4-3. Seguimiento de la actividad respiratoria habitual en una atmósfera de aire de la lechuga Iceberg conservada durante 15 días a 6°C.

4.2. RESULTADOS

La actividad respiratoria de la lechuga Iceberg incrementó con la temperatura (Tabla 4-1). Cantwell y Suslow (2006), observaron esta respuesta ascendente entre 0 y 20°C con una recopilación de datos de respiración de la lechuga Iceberg utilizando diversos sistemas de montajes experimentales de la bibliografía científica reflejados en la Tabla 4-2.

Tabla 4-1. Resumen de estadísticos obtenidos del análisis de la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg a temperaturas comprendidas entre 0 y 20°C.

T ^a (°C)	Resp. ^z	n ^y	Series ^x	S ^w	DER (%)	Vmin ^v	Vmax ^u
0	4,0	4	1	0,5	12,5	3,7	4,8
2	5,6	51	17	1,8	32,2	2,3	9,5
4	7,3	8	3	1,9	26,0	4,9	10,3
5	6,5	13	5	0,3	5,1	5,8	7,0
6	6,8	19	7	1,9	28,1	4,0	11,4
15	21,2	12	4	3,2	15,3	16,0	28,7
20	41,1	3	1	8,6	21,0	31,8	48,9

^z resp.: actividad respiratoria [mL CO₂/(kg•h)]

^y n: tamaño de la muestra

^x series: n° de series de datos

^w S: desviación estándar

^v Vmin: valor mínimo

^u Vmax: valor máximo

Tabla 4-2. Tasas de respiración de lechugas acogolladas tipo Iceberg a distintas temperaturas ^z.

Temperatura [°C]	Tasa respiratoria [mL CO ₂ /(kg•h)]
0	3-8
5	6-10
10	11-20
15	16-23
20	25-30

^z adaptado de Cantwell y Suslow (2006)

Los datos de respiración obtenidos en el presente estudio (Tabla 4-1) se pueden ajustar generalmente dentro de los intervalos reportados por Cantwell y Suslow (Tabla 4-2). La excepción ocurrió a 20°C, donde el valor obtenido en este estudio fue de 41,1 mL CO₂/(kg•h), mientras que el intervalo común de valores a 20°C definido por estos investigadores correspondió a 25–30 mL CO₂/(kg•h). A su vez, los datos obtenidos en este estudio coinciden con los valores dados por Kader (1985a y 1987) para la lechuga Iceberg, excepto a 15 y 20°C donde este autor obtuvo valores muy bajos, incluso inferiores a los de Cantwell y Suslow (Tabla 4-2). Estos valores de Kader fueron: 4 mL CO₂/(kg•h) a 0°C, 6 a 5°C, 8 a 10°C, 14 a 15°C y 25 a 20°C. Este investigador clasificó a la lechuga como producto de actividad respiratoria moderada, es decir, que tiene una

actividad respiratoria comprendida entre 5 y 10 mL CO₂/(kg·h) medida a 5°C (en este estudio 6,5, Tabla 4-1), por tanto se trata de un producto moderadamente perecedero. Similares conclusiones a las de Platenius, que ya en 1942, reportó unos valores de actividad respiratoria para la lechuga Iceberg de 35 mL CO₂/(kg·h) a 24°C, de aproximadamente 9 mL CO₂/(kg·h) a 10°C y entre 8 (valor al inicio de conservación) y 3,5 mL CO₂/(kg·h) al cabo de 10 días de conservación a 0,5°C. Todos estos valores son muy semejantes a los obtenidos en este estudio, especialmente a temperaturas menores de 15°C, y difieren a 20°C, donde los valores obtenidos han sido más elevados que en la bibliografía consultada.

4.3. DISCUSIÓN

La temperatura es uno de los factores que más influye sobre el proceso respiratorio. De hecho, es el factor ambiental más importante que contribuye a la supervivencia comercial de los productos hortofrutícolas frescos por sus efectos decisivos sobre la velocidad de los procesos fisiológicos, incluida la respiración (Kader, 1987). El aumento de la temperatura en las reacciones químicas que impliquen un aumento del desorden favorece la descomposición de moléculas en otras más sencillas de acuerdo con las leyes de cinética química, de tal manera que un aumento de ésta provoca una aceleración de las reacciones y, por tanto, de la respiración. Otra prueba evidente de esta influencia, es que todos los procesos fisiológicos catalizados por enzimas están fuertemente influenciados por la temperatura, presentando todos ellos una temperatura mínima, óptima y máxima (Barceló, *et al.*, 1998). Por encima de 40°C, la intensidad respiratoria disminuye debido a la desnaturalización de las proteínas enzimáticas (Kader, 1987).

Las altas tasas respiratorias son típicas de productos hortofrutícolas frescos y altamente perecederos (Kader, 1985b). Atendiendo a este concepto, la supervivencia comercial del producto, almacenado en condiciones adecuadas de calidad y libre de alteraciones fisiológicas y podredumbres, está íntimamente relacionada con la actividad respiratoria o metabolismo general. Una elevada tasa respiratoria implica una rápida entrada en el período de senescencia que es prelude de la muerte del tejido cosechado y, por tanto, de su pérdida comercial.

La interpretación a la mayor similitud de los valores de respiración obtenidos a bajas temperaturas en este estudio respecto a la bibliografía consultada, debe encontrarse en que el proceso respiratorio se encuentra ralentizado por el efecto de la temperatura, por tanto, las diferencias se compensan. Matemáticamente, la significación se encuentra en el concepto de que al aumentar la temperatura aumenta concomitantemente el error experimental de la medida. En otras palabras, el coeficiente de variación (desviación estándar relativa o DER) permanece constante o aumenta, No obstante, este hecho no ha sido evidente (DER - Tabla 4-1), quizás debido a la interferencia con el número de series de datos considerado y la propia variabilidad del material vegetal. También hay que tener en consideración que a 20°C sólo se utilizó una serie de datos. Quizás esta variabilidad en los valores de la DER en relación con la temperatura se debe, fundamentalmente, a la influencia de una elevada serie de datos obtenidos de campañas diferentes. En otras palabras, la variabilidad de la respiración entre distintas lechugas, cultivos, épocas del año y campañas.

Como conclusión, el método dinámico de la medida de la actividad respiratoria aplicado a la lechuga Iceberg ha arrojado unos valores acordes con los reportados en la bibliografía para este producto, especialmente a temperaturas de refrigeración o frescas. Al mismo tiempo, se ha caracterizado la actividad respiratoria de la lechuga, lo que podría ser utilizado para modelar la supervivencia comercial del producto cosechado y almacenado en aire o en AM y permitir el diseño adecuado de envases plásticos semipermeables aplicados a la conservación de la lechuga.

El presente trabajo fue publicado con la siguiente referencia:

Autores (p.o. de firma): **Martínez, J.A.**, Artés, F.

Título: Adecuación de un sistema dinámico de medición de la actividad respiratoria a la lechuga Iceberg.

Tipo de participación: Internet.

Congreso: Cuarto Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

Publicación: Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (4º), 2007. ISBN: 978-84-491-0796-2.

Lugar de celebración: Virtual (internet). www.iberolab.org Fecha: 2007.

**5. VARIACIÓN DE ACTIVIDAD RESPIRATORIA Y EMISIÓN DE
ETILENO DE LA LECHUGA MÍNIMAMENTE PROCESADA
SEGÚN EL GRADO DE CORTE**

5. VARIACIÓN DE ACTIVIDAD RESPIRATORIA Y EMISIÓN DE ETILENO DE LA LECHUGA MÍNIMAMENTE PROCESADA SEGÚN EL GRADO DE CORTE

RESUMEN. Se ha estudiado el efecto de diversos tamaños de corte de hoja de lechuga Iceberg ciclo Coolguard sobre la actividad respiratoria y la emisión de etileno, con el fin de facilitar un diseño óptimo de polímeros plásticos para envasar lechuga entera y mínimamente procesada para su almacenamiento a 5°C. Se seleccionaron 3 tipos de grado de corte de acuerdo con las prácticas comerciales: menor de 0,5 cm, entre 0,5 y 1 cm, y 2 cm. Se compararon los resultados de los cuatro experimentos planeados con los obtenidos de los cogollos enteros sin trocear, que arrojaron un valor de respiración homogéneo entre experimentos comprendido entre 6 y 8 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹. La actividad respiratoria de la lechuga mínimamente procesada fue dos veces superior a la entera. El menor tamaño de corte implicó una mayor respiración, pero no se encontraron diferencias significativas entre la lechuga procesada con tamaño intermedio y la troceada con el mayor tamaño. No se detectó etileno en los cogollos intactos, mientras que sólo se detectaron trazas de esta hormona en la lechuga procesada. Con el fin de evitar riesgos de anaerobiosis y exceso de CO₂ en el interior de los envases que contengan lechuga mínimamente procesada con tamaño de corte de hoja inferior a 0,5 cm, será necesario seleccionar polímeros plásticos dotados de una buena permeabilidad al O₂, como el polipropileno estándar o el polietileno de baja densidad.

ABSTRACT. For designing optimal polymeric films for modified atmosphere packaging of whole heads as well as for minimally fresh processed (fresh-cut) Iceberg lettuce 'Coolguard', the effect of several cutting grades on respiration rate (RR) and ethylene production at 5°C was studied. According to common industrial practices cutting grades less than 0.5 cm, between 0.5 and 1 cm, and 2 cm length were selected. Results from four experiments were compared to those obtained for whole heads in which a homogenous range of 6 to 8 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ in RR was found. Compared to whole heads, in fresh-cut lettuce the RR was 2-fold higher. The lowest cutting grade showed the highest respiration rate, and no significant differences in RR among lettuce pieces of intermediate and the highest grades were found. No ethylene production was detected in whole heads, while in minimally processed lettuce pieces only traces were found. For avoiding risks of anaerobic respiration and excessive CO₂ levels within packages containing fresh-cut lettuce pieces lower than 0.5 cm length, films with relatively high O₂ permeability like standard polypropylene or low density polyethylene must be selected.

5.1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se está incrementando en todo el mundo el consumo de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, debido a la demanda de frutas y hortalizas frescas, libres de aditivos y de productos tóxicos y dotados, al mismo tiempo, de una elevada calidad general y microbiológica. Los productos hortofrutícolas procesados en fresco se acondicionan para su consumo directo por métodos simples (lavado, deshojado, cortado, partido, rallado, etc.), se envasan en una película plástica de permeabilidad selectiva y se conservan refrigerados, generalmente bajo EAM. Estos

tipos de productos vegetales son muy perecederos y presentan un elevado riesgo de deterioro rápido con detrimento de la calidad y, por tanto, es necesario extremar los cuidados durante su producción, distribución y puntos de venta. Para el mantenimiento de calidad de los productos mínimamente procesados, deben ir preparados y manipulados en instalaciones adecuadas refrigeradas, extremando la higiene y almacenándolos en EAM entre 0 y 5°C hasta su consumo (Watada *et al.*, 1990; Artés, 1995a; Francis *et al.*, 1999; Artés, 2000; Artés y Artés-Hernández, 2000 y 2004b).

El diseño óptimo de envase de acuerdo con la metodología EAM, implica el conocimiento de las propiedades de permeación de los polímeros plásticos y la actividad respiratoria (AR) del producto. Entre las características que debe reunir un polímero plástico para que sea utilizado en EAM, es que debe cerrarse herméticamente con el fin de evitar la contaminación microbiana, asegurando las condiciones higiénicas y limitando la transmisión de vapor de agua. Obviamente, para generar un estado de equilibrio adecuado de la atmósfera dentro del envase debido a la interacción entre la respiración del producto y la permeabilidad del envase, el polímero plástico debe tener un adecuado valor de permeabilidad al O₂ (PO_2) y al CO₂ (PCO_2) de acuerdo con los requerimientos fisiológicos del producto (Artés, 1993; Artés y Martínez, 1998; Chiesa *et al.*, 2004). La supervivencia comercial del producto bajo EAM puede ser incrementada reduciendo el nivel de O₂ dentro del envase debido a su efecto favorable para reducir el metabolismo y la AR. Sin embargo, los niveles de O₂ inferiores a 1% pueden provocar respiración anaeróbica y producción de compuestos extraños (Gorny, 1997a) y permitir el crecimiento de microorganismos anaerobios aerotolerantes como las bacterias LAB (bacterias del ácido láctico) y patógenos psicrotrofos anaeróbicos (Marth, 1998). Los polímeros plásticos a base de poliolefinas, como el polipropileno (PP) y el LDPE son utilizados corrientemente en la técnica EAM para productos frescos y mínimamente procesados. Ello es debido a que sus PO_2 , PCO_2 y sus selectividades (ratio PCO_2/PO_2), son adecuadas para obtener condiciones óptimas para el almacenamiento de este tipo de productos (Exama *et al.*, 1993; Artés *et al.*, 1996; Artés *et al.*, 1998b; Artés y Martínez, 1998).

El corte de las hortalizas destinadas al procesado mínimo provoca una respuesta fisiológica por estrés de herida. Comparado con los productos intactos de los que proceden, el metabolismo, la AR y la emisión de etileno son habitualmente incrementados y entonces ocurren reacciones enzimáticas indeseables que provocan el pardeamiento de los tejidos vegetales (Mattila *et al.*, 1993; Artés *et al.*, 1998a). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los distintos grados de procesado mínimo, variando el tamaño de corte, sobre la AR y la emisión de etileno de la lechuga Iceberg.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Material vegetal

La lechuga Iceberg (*Lactuca sativa* L.) es la materia prima más importante para la industria del procesado mínimo en todo el mundo y Coolguard constituye uno de los ciclos mejor adaptados para procesado mínimo. Las cabezas de Coolguard crecieron bajo clima mediterráneo y se recolectaron entre los meses de enero a abril en una

plantación comercial del Campo de Cartagena, Murcia (España). Las lechugas se recolectaron de acuerdo con las prácticas comerciales. Las cabezas se empaquetaron en cajas de plástico y se transportaron inmediatamente al laboratorio (40 km), donde se colocaron en una cámara frigorífica a 5°C hasta su manipulación, que se hizo el día siguiente a la recepción.

5.2.2. Procesado mínimo

El procesado se realizó en el interior de una cámara desinfectada a 10°C, eliminando previamente bien los cogollos que presentaban algún defecto de campo, bien alguna hoja externa del cogollo rozada en el transporte y, con cuchillos convenientemente afilados, el tallo completo. A continuación, los cogollos se dividieron manualmente en dos partes mediante un corte longitudinal practicado a lo largo del eje central. Seguidamente, se practicaron cortes transversales al eje central, a intervalos regulares, comenzando por el extremo opuesto al tallo.

De acuerdo con la práctica comercial realizada en España, se establecieron los siguientes tamaños aproximados de ancho de corte: menor de 0,5 cm, entre 0,5 y 1 cm, y 2 cm. El número de cortes realizados por cogollo de lechuga estuvo comprendido entre 50 y 70 en el corte más fino, entre 20 y 40 en el intermedio y entre 10 y 15 para el corte más grueso. Lógicamente, al aumentar el ancho de corte, disminuyó el número de troceados. A continuación se homogeneizaron todos los troceados de lechugas correspondientes al mismo tamaño y se dispusieron tres réplicas aleatorias por cada tipo de corte.

5.2.3. Determinación de la actividad respiratoria y producción de etileno

Para comparar la AR de la lechuga intacta con la de la procesada, se tomaron al azar tres cogollos de lechuga libres de defectos. A estas piezas también se les eliminó en su caso alguna hoja exterior rozada y, eventualmente, se le practicó un fino corte transversal de la base del tallo para eliminar la zona oxidada con pardeamiento.

El montaje experimental y método de medida de la AR fue el de flujo continuo. Consiste en la introducción de un caudal conocido y constante de aire, proporcionado por un compresor, regulado por un permeámetro conectado a un capilar calibrado, y conducido a la cámara respiratoria estanca de vidrio que contiene el producto vegetal. Todo este montaje estuvo en el interior de una cámara frigorífica a 5°C y 90–95% HR. Después de un período reducido de tiempo, la cantidad de CO₂ emitido por el producto en el recipiente de vidrio iguala la cantidad de este gas que fluye a la salida del recipiente. Con el fin de evitar la inhibición del proceso respiratorio la tasa de flujo de aire se ajustó para que no se acumulara más de 0,2% de CO₂ dentro de la cámara respiratoria. Cuando el equilibrio fue alcanzado, la producción de CO₂ se calculó a partir del peso del producto, de la tasa de flujo y la diferencia de concentración entre la entrada y salida de la cámara respiratoria de acuerdo con la ecuación 5-1 (Saltveit, 1982):

$$\text{mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} = \% \text{ CO}_2 \cdot 10 \cdot C \cdot M^{-1} \quad (5-1)$$

donde,

mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ representa el volumen de CO₂ emitido en la respiración aerobia por kg y por hora.

% CO₂ es el determinado en la cámara respiratoria en un momento dado, que se corrige con el CO₂ presente en la atmósfera (0,03%).

C, es el caudal de aire que entra en la cámara respiratoria expresado en L/h.

M, es la masa de lechuga en kg.

Debido a la baja emisión de etileno, este gas fue detectado utilizando un sistema estático, sin llegar a alcanzar niveles inhibitorios por acumulación de CO₂ en el recipiente (Saltveit, 1982). La tasa de emisión de etileno se calculó de acuerdo con la ecuación 5-2:

$$\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \bullet \text{kg}^{-1} \bullet \text{h}^{-1} = \text{ppm C}_2\text{H}_4 \bullet C \bullet M^{-1} \quad (5-2)$$

Las medidas se efectuaron con un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer, Connecticut, EE.UU.), dotado de TCD y detector de ionización de llama (FID), con una columna 80/100 porapak QS de 1,2 m x 1/8 s. Las muestras de gas tomadas de las cámaras respiratorias correspondieron a 1 mL para el CO₂ y 5 mL para el C₂H₄. El error de la medida fue de 0,1% para el CO₂ y 1,5% para el C₂H₄, con un límite de detección de 0,01 ppm de C₂H₄ y de 0,01% de CO₂. La determinación del CO₂ y C₂H₄ se realizó diariamente, por triplicado, en cada una de las tres cámaras respiratorias por tipo de procesado.

5.2.4. Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial de medidas repetidas. En cada experiencia se tomaron las muestras de gases diariamente de las mismas unidades experimentales. Las cuatro experiencias se analizaron independientemente. Se aplicó el ANOVA de medidas repetidas con el software Statgraphics Plus para Windows 5.1 (Statistical Graphics Corp., Englewood, Cliffs, EE.UU.). Se aplicó el test LSD de comparación de medias.

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores más bajos de AR fueron encontrados en las piezas de lechuga intactas, sin procesar. En estas cabezas, los valores medios de AR a 5°C fueron homogéneos y oscilaron entre 6 y 8 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ (Figs. 5-1 y 5-2). Nuestros resultados están dentro del rango reportado por Kader (2002) para las cabezas enteras de un cultivar de lechuga no especificado. Este autor clasificó a la lechuga como un vegetal de AR moderada, cuyos valores de respiración están comprendidos entre 5 y 10 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ a 5°C. Le Ster (1995) reportó una AR de 9 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ para la lechuga entera a 10°C.

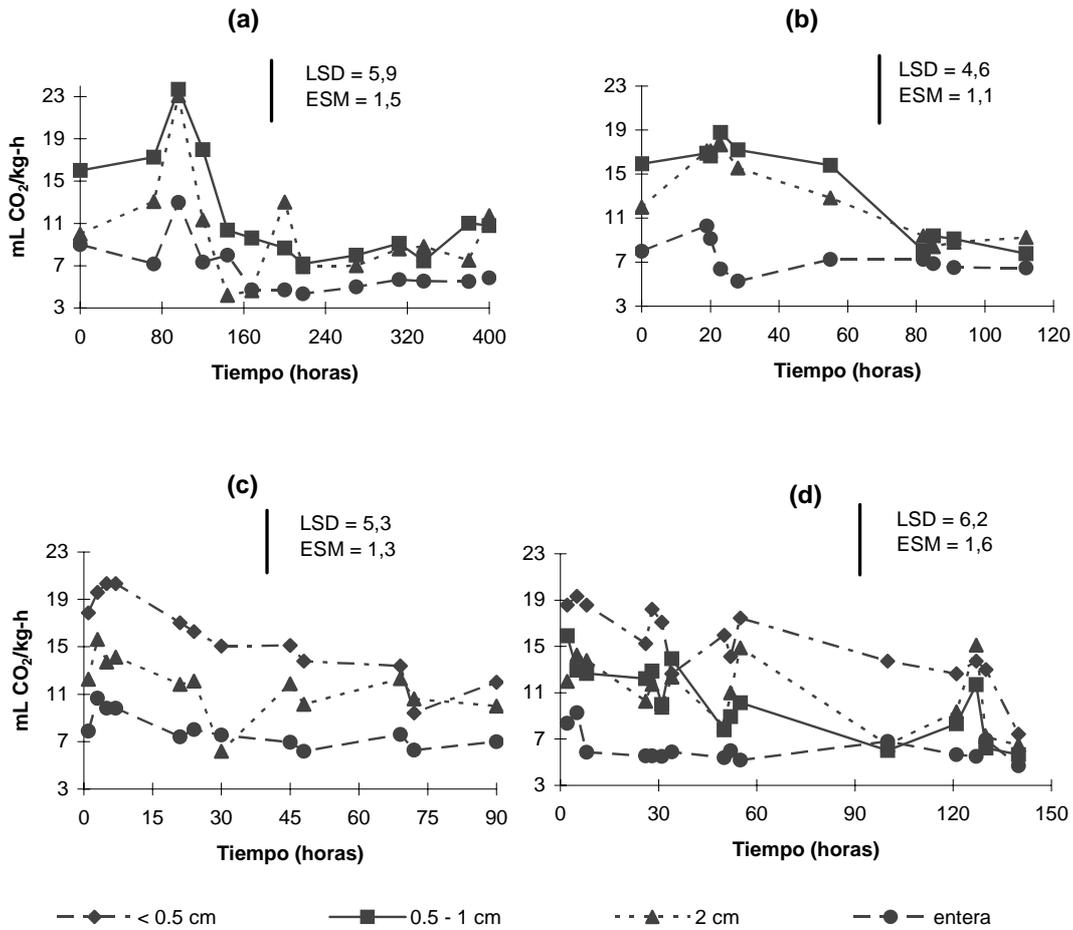


Fig. 5-1 Evolución de la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg, en cogollos enteros y procesada en fresco, cortada en diferentes tamaños, durante la conservación a 5°C y 90-95% HR, en cuatro experimentos: (a) 1^{er} experimento, (b) 2^o experimento, (c) 3^o experimento, (d) 4^o experimento. EEM es el error estándar de la media (n = 3). Las barras verticales representan el intervalo LSD ($P \leq 0,05$).

Tabla 5-1. Análisis de la varianza (en porcentaje de la suma total de cuadrados y probabilidad) de la actividad respiratoria de la lechuga Iceberg en diferentes grados de procesado y de cogollos enteros conservada a 5°C en cuatro experimentos^z.

Fuente de variación	GL	Experi- mento 1	GL	Experi- mento 2	GL	Experi- mento 3	GL	Experi- mento 4
Tipo de Procesado	2	18,52*** ^y	2	34,08***	2	54,31***	3	56,56***
Tiempo de conservación	10	51,61***	8	37,48***	10	20,71***	14	17,21***
Residual	78	30,64	63	28,66	86	24,97	112	25,60

^z la numeración de los experimentos corresponde a la misma presentada en las figuras

^y *** significativo a $P \leq 0,001$. GL = grados de libertad

Las cabezas enteras de lechuga presentaron un suave descenso de la AR de aproximadamente $10 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en la cosecha hasta $5\text{-}6 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ durante los primeros 6 días a 5°C , sin diferencias significativas hasta el final del período de almacenamiento (Fig. 5-1b, c, d). Estos valores confirman los obtenidos por Handerburg *et al.* (1986), quienes reportaron un decremento de la AR a 5°C en cabezas enteras de lechuga Iceberg ciclo “Great Lakes” desde alrededor de $10 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, en la cosecha, hasta $7 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ después de 5 días. También nuestros resultados estuvieron de acuerdo con los obtenidos por Cantwell (1995), quien no detectó ningún decremento significativo en cabezas enteras de lechuga Iceberg durante 9 días a temperaturas comprendidas entre $2,5$ y 10°C .

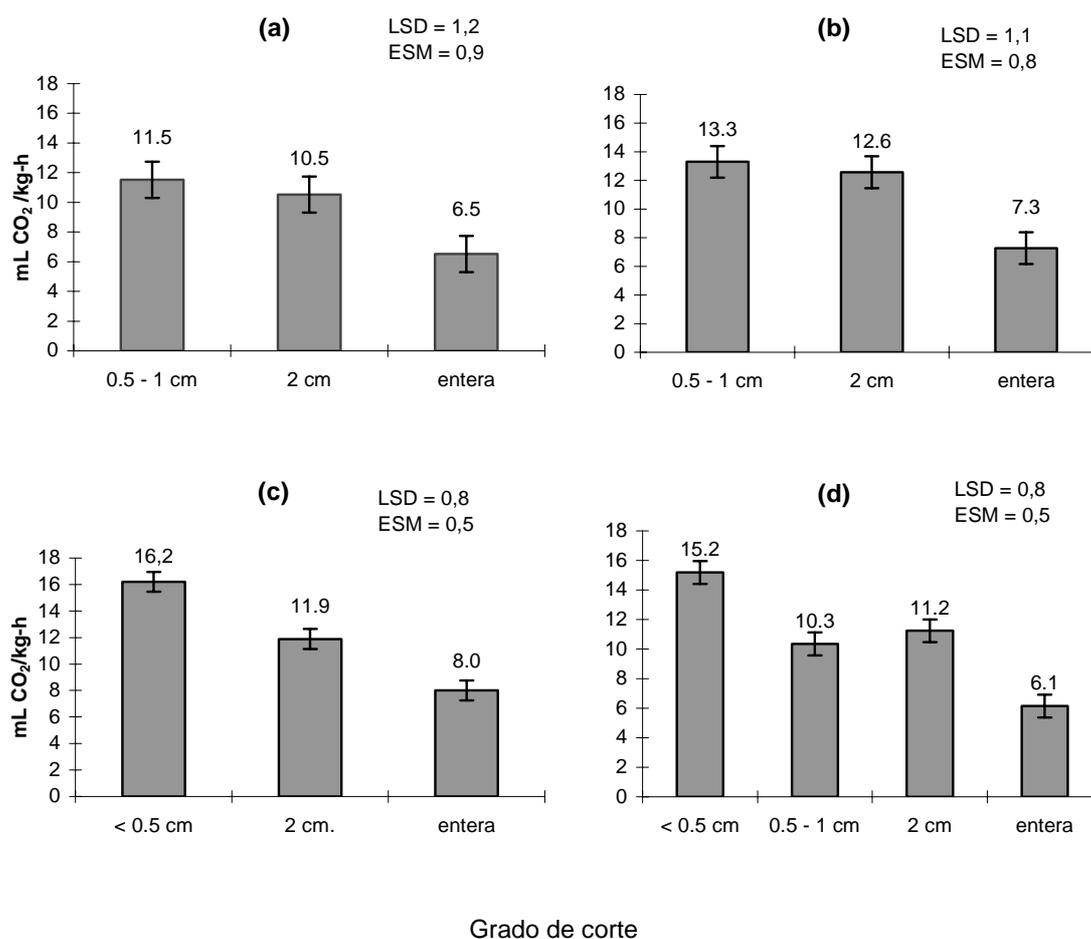


Fig 5-2. Valores medios de la actividad respiratoria de lechuga Iceberg, en cogollos enteros y procesada en fresco, cortada en diferentes tamaños, durante la conservación a 5°C y $90\text{-}95\% \text{ HR}$ en cuatro experimentos: (a) 1^{er} experimento, (b) 2^o experimento, (c) 3^o experimento, (d) 4^o experimento. EEM es el error estándar de la media. Las barras verticales representan el intervalo LSD ($P \leq 0,05$).

La influencia del grado de procesado y duración del almacenamiento sobre la AR de la lechuga mínimamente procesada se presenta en la Tabla 5-1. A lo largo de las cuatro experiencias, ambos factores presentaron un efecto significativo (a $P \leq 0,001$, con el 75% de la varianza explicada). La AR duplicó, al menos, los valores de la

lechuga entera durante las primeras horas después del procesado, debido a las heridas realizadas en los tejidos (Fig. 5-1), que inducen una libre difusión del CO₂ y del O₂ a su través. Después de esto, se establece una difusión normal de los gases respiratorios y, por tanto, la AR decrecienta ligeramente (Fig. 5-1). Este incremento inicial fue superior en la lechuga más finamente troceada, probablemente debido a la elevada superficie de corte del tejido vegetal y el incremento concomitante de la difusión de los gases.

Los valores medios de AR en la lechuga procesada variaron entre 10 y 16 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹. Le Ster (1995), reportó un resultado ligeramente superior a 22 mL CO₂•kg⁻¹•h⁻¹ a 10°C para la lechuga troceada, muy probablemente debido a la alta temperatura. No se encontraron diferencias significativas entre los grados de corte de 0,5 - 1 cm y 2 cm (Fig. 5-2a, b, d). La AR de ambos fue superior al de las piezas enteras e inferior al grado de corte menor de 0,5 cm. Adicionalmente se puso de manifiesto que la AR de la lechuga fue superior en el tamaño de corte más fino (Fig. 5-2c, d). Esta diferencia pudo ser debida a la intensidad y severidad de las heridas sobre el tejido de la lechuga debido a la realización de un mayor número de cortes. Esta cantidad de heridas fue la causa del incremento de la AR descrito anteriormente (Fig. 5-1). También ha sido reportado que la AR de otras hortalizas mínimamente procesadas es afectada por el grado de corte (Mattila *et al.*, 1993; Chu y Wang, 2001).

Al mismo tiempo, y en respuesta al grado de corte, el incremento de la producción de etileno estimuló la AR. En nuestras experiencias, la emisión de etileno fue de aproximadamente 0,05 μL•kg⁻¹•h⁻¹ en el grado de corte inferior a 0,5 cm inmediatamente después del troceado y se redujo a 0,02 μL•kg⁻¹•h⁻¹ 24 horas después (Tabla 5-2). Estos resultados estuvieron de acuerdo con los reportados por Yang y Pratt (1978), quienes describieron un pico de emisión de etileno debido a heridas después de un período de latencia de 10 a 30 minutos, seguido de una reducción durante las siguientes horas. Nuestros resultados también confirman los obtenidos por Kim y Wills (1995), que reportaron que la lechuga produce muy poco etileno, menos de 0,1 μL•kg⁻¹•h⁻¹. Sin embargo, no se detectó emisión de etileno ni en las cabezas enteras ni en los grados de corte de 2 cm, sólo trazas de este gas inmediatamente después del corte en la lechuga troceada con tamaño de corte de 0,5-1 cm (Tabla 5-2).

Tabla 5-2. Producción de etileno (ppm) en lechuga entera y procesada inmediatamente después de procesar y transcurridas 24 horas.

Tiempo transcurrido (horas)	Entera	Grado de corte (cm)		
		< 0,5	0,5-1	2
0	nd ^z	0,05	0,02	nd
24	nd	0,02	nd	nd

^z no detectado

La selección de polímeros plásticos para envasado depende de la AR del producto de acuerdo con el grado y forma de corte. A menor tamaño de las piezas son necesarias mayores PCO₂ y PO₂. La PCO₂ debe ser relativamente elevada para evitar riesgo de alteraciones por acumulación de este gas dentro de los envases. De hecho, la severidad de la mancha parda aumenta con los niveles de CO₂ alrededor de las cabezas

intactas de lechuga, donde concentraciones de este gas superiores al 2% (Artés y Martínez, 1998; Artés *et al.*, 1999), o superiores al 18% en lechuga Iceberg mínimamente procesada (Mateos *et al.*, 1993), provocan esta alteración. Por otra parte, los niveles de O₂ inferiores a 1% pueden inducir riesgos de anaerobiosis y olores extraños (Artés *et al.*, 1999).

De los resultados obtenidos del presente estudio sobre la AR y de acuerdo con estudios previos (Artés y Martínez, 1998; Artés *et al.*, 1998b), las poliolefinas reciclables a base de PP de 24 µm de espesor y especialmente el LDPE de 14 µm de espesor, podrían ser adecuadas para envasar la lechuga Iceberg ciclo Coolguard mínimamente procesada para todos los grados de corte estudiados. La P_{O₂} del PP a 2°C fue de 40 mL•mm•m⁻²•día⁻¹•atm⁻¹, y la P_{CO₂} de 121 mL•mm•m⁻²•día⁻¹•atm⁻¹, mientras que las del LDPE fueron de 163 y 597 respectivamente. Por tanto, la selectividad fue de 3,0 en PP y de 3,7 en LDPE. Por la ecuación general de intercambio de gases en un sistema EAM (ecuaciones 5-3 y 5-4) (Mannapperuma *et al.*, 1989), se puede conocer el efecto de la selectividad sobre las condiciones gaseosas y viceversa.

$$b \cdot W \cdot R_{O_2} = P_{O_2} \cdot A \cdot (c_{O_2} - x_{O_2}) \quad (5-3)$$

$$b \cdot W \cdot R_{CO_2} = P_{CO_2} \cdot A \cdot (c_{CO_2} - x_{CO_2}) \quad (5-4)$$

donde,

b, es el espesor de la película plástica (mm).

W, es el peso del producto dentro del envase (kg).

R, es la AR (mL•gas•kg⁻¹•día⁻¹).

P, es la permeabilidad de la película plástica (mL•mm•m⁻²•día⁻¹•atm⁻¹).

A, es el área de la película plástica (m²).

c, es la presión parcial del gas en la atmósfera que rodea al envase (generalmente aire).

x, es la presión parcial del gas en el espacio de cabeza del envase.

Este modelo equipara el estado de equilibrio entre el flujo de gas a través del envase y la AR del producto. Como consecuencia de esto, a partir de las ecuaciones 5-3 y 5-4, se puede obtener la ecuación 5-5:

$$x_{CO_2} = c_{CO_2} + 1 \cdot \beta^{-1} \cdot (c_{O_2} - x_{O_2}) \cdot R_{CO_2} \cdot R_{O_2}^{-1} \quad (5-5)$$

donde,

*c*_{CO₂}, es constante y de valor prácticamente igual a 0.

*R*_{CO₂}•*R*_{O₂}⁻¹, es el cociente respiratorio (generalmente igual a 1).

β, es la selectividad.

Por tanto, queda (ecuación 5-6):

$$x_{CO_2} = 1 \cdot \beta^{-1} \cdot (c_{O_2} - x_{O_2}) \quad (5-6)$$

La ecuación 5-6 presenta una tendencia lineal con una pendiente de valor *β*⁻¹. La lechuga mínimamente procesada y en un EAM necesita niveles de O₂ comprendidos

entre 0,5 y 3%, y entre 10 y 15% de CO₂ (Gorny, 1997b). De acuerdo con estos requerimientos, se obtuvieron los ratios de permeabilidades simulando valores extremos de los gases respiratorios dentro del envase y sustituyendo en la ecuación 5-6 para calcular el valor de β . Estos valores fueron:

$$x_{\text{CO}_2} = 0,15 \text{ y } x_{\text{O}_2} = 0,005 \rightarrow \beta = 1,4$$

$$x_{\text{CO}_2} = 0,10 \text{ y } x_{\text{O}_2} = 0,03 \rightarrow \beta = 1,8$$

$$x_{\text{CO}_2} = 0,15 \text{ y } x_{\text{O}_2} = 0,03 \rightarrow \beta = 1,2$$

$$x_{\text{CO}_2} = 0,10 \text{ y } x_{\text{O}_2} = 0,005 \rightarrow \beta = 2,1$$

Los valores de β fueron menores de 3, pero debido a que la temperatura a través de la cadena de distribución de este tipo de productos es raramente inferior a 5°C, y que la concentración óptima de los gases está muy cercana a los niveles de una atmósfera dañina, es recomendable alcanzar porcentajes de O₂ superiores al 3% dentro del envase ante estas condiciones y, particularmente, cuando se utilice el grado de corte más fino. De hecho, el gas que más afecta a la calidad de la lechuga es el O₂ y el porcentaje de 3% reduce el pardeamiento en la lechuga troceada (Mateos *et al.*, 1993). Sin embargo, los beneficios de la acumulación del CO₂ no constituyen un factor crítico. De esta manera, en nuestra opinión, una atmósfera dentro del envase del 3% O₂ y 5 a 6% CO₂ es comercialmente útil. Esta atmósfera podría ser obtenida utilizando un diseño de envase con PP (selectividad de 3) y de LDPE (selectividad de 3,7), sustituyendo los valores en la ecuación 5-6 y considerando un peso de producto adecuado, área del envase, espesor de la película plástica y, por supuesto, los valores de la AR para alcanzar las condiciones óptimas en un sistema EAM, de acuerdo con las ecuaciones 5-3 y 5-4.

5.4. CONCLUSIONES

Durante el almacenamiento a 5°C de los cogollos enteros de lechuga, no se produjo una variación significativa de la tasa respiratoria. Sin embargo, el procesado produjo un súbito incremento de la AR, que tendió a remitir significativamente durante la conservación a 5°C, especialmente en la lechuga más finamente procesada.

Sobre la base de su AR se puede clasificar la lechuga Iceberg ciclo Coolguard procesada en fresco, en dos categorías claramente diferenciadas: la finamente procesada (corte $\leq 0,5$ cm) y la de tamaños entre 0,5 y 2 cm. La mayor producción de CO₂ se encontró en la lechuga más finamente troceada (menos de 0,5 cm). Consecuentemente este grado de corte demandará polímeros plásticos con elevadas permeabilidades al O₂ y al CO₂ a temperaturas de refrigeración, como el PP estándar o el LDPE, con el fin de evitar un exceso de acumulación de CO₂ y riesgo de anaerobiosis dentro del envase.

El presente trabajo fue publicado con la siguiente referencia:

Autores (p.o. de firma): **Martínez, J.A.**, Chiesa, F., Tovar, F., Artés, F.

Título: Respiration rate and ethylene production of fresh cut lettuce as affected by cutting grade.

Ref. Revista: Agricultural and Food Science.

Área JCR (Science Edition): Índice de Impacto: 0,255 Tercio en el que está incluida: 2º
Agriculture,
Multidisciplinary.

Clave: A Volumen: 14 Páginas, inicial: 354 Final: 361 Fecha: 2005

6. INFLUENCIA DEL ENVASADO SOBRE EL MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD DE LA LECHUGA TIPO SALINAS

6. INFLUENCIA DEL ENVASADO SOBRE EL MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD DE LA LECHUGA TIPO SALINAS

RESUMEN. Se envasaron cogollos de lechuga Iceberg ciclo Salinas (*Lactuca sativa* L., cv. Salinas), individualmente en películas plásticas de polipropileno (PP) no orientado macroperforado de 22 μm de espesor y en nuevas películas de polipropileno no perforado de 25 y 50 μm de espesor. Las lechugas se almacenaron durante 2 semanas a 2°C y posteriormente a 12°C durante 2,5 días. Adicionalmente se comprobó el efecto del preenfriamiento bajo vacío y de la modificación activa de la atmósfera mediante la inyección de una mezcla gaseosa determinada. Se determinó la calidad de la lechuga valorando el marchitamiento, la incidencia de alteraciones fisiológicas, la podredumbre bacteriana y la calidad global visual. La mancha canela y las nervaduras rosáceas fueron las principales alteraciones fisiológicas que aparecieron en las piezas de lechuga conservadas sin envoltura plástica y en las envasadas en PP perforado. Sin embargo, estas alteraciones fueron escasas en el resto de lechugas almacenadas en PP no macroperforados. Por el contrario, estas lechugas tuvieron riesgo de desarrollar daños del cogollo interior y mancha parda, especialmente tras el período de 2,5 días a 12°C. Las nervaduras rosáceas y el daño por cogollo interior aparecieron fundamentalmente en las lechugas preenfriadas. La razón de esta susceptibilidad, que no ha sido reportada con anterioridad, permanece desconocida y por tanto es necesario seguir estudiando para dilucidar los factores que están envueltos. La reducción del nivel de O_2 dentro del envase se correlacionó con un aumento de la calidad visual global. Los mejores resultados se obtuvieron en las lechugas que se preenfriaron y envasaron en PP con modificación activa de la atmósfera de 21,6 g/L O_2 y 0 g/L CO_2 .

ABSTRACT. Heads of lettuce (*Lactuca sativa* L., cv. 'Salinas') were individually wrapped or sealed in nonoriented perforated (22 μm thickness) or unperforated (25 or 50 μm thickness) new polypropylene (PP) films, and stored for 2 weeks at 2°C plus 2.5 days at 12°C. Vacuum cooling and/or active modification of the atmosphere within the package by flushing a gas mixture were applied. Quality of lettuce by scoring wilting, physiological disorders, bacterial decay and overall visual quality was determined. In naked head stored in air and in lettuce wrapped in perforated PP, russet spotting and pink rib, the main disorders of lettuce during postharvest developed. However in all treatments with sealed PP bags, those disorders did practically not appear. Heart leaf injury and brown stain developed on lettuce sealed in PP bags, particularly after transfer to higher temperature. Pink rib and heart leaf injury mainly appeared in vacuum cooled lettuce. The reason for this susceptibility, that has not been previously reported, is unknown and additional research is needed to identify the factors involved. Low O_2 was related with high quality score. The best results were obtained in vacuum cooled lettuce packed in PP bags with initial 21.6 g/L O_2 and 0 g/L CO_2 atmosphere.

6.1. INTRODUCCIÓN

La lechuga Iceberg cv. Salinas constituye el ciclo de esta variedad de lechuga más ampliamente cultivada en España durante las campañas de invierno y primavera. Este ciclo presenta una coloración interior ligeramente cremosa y es altamente resistente al "tipburn" bajo determinadas condiciones. Madura uniformemente, alcanzando una

alta homogeneidad en el momento de la cosecha. Presenta excelentes propiedades texturales y palatales (Ryder, 1979b).

Las condiciones recomendadas para el almacenamiento de la lechuga son: 0-5°C, 10,8-53,9 g/L O₂ y 0-37,1 g/L CO₂. Obtener la modificación del nivel de O₂ alrededor de las lechugas es sencillo y económico mediante el uso de envases plásticos termosellados, técnica denominada EAM, que permite obtener los beneficios de la AC en recintos convencionales durante el transporte refrigerado. Los efectos favorables del EAM han sido resumidos por Brecht *et al.* (1973c); Shewfelt (1986); Lioutas (1988); Kader (1990a); Gorris y Peppelenbos (1992); Yahia y Rivera (1992) Gil *et al.* (1996) y por Artés, 2006. En esencia, consisten en una mejora de la supervivencia y calidad comercial y un retraso de la maduración y senescencia de frutas y hortalizas enteras y mínimamente procesadas. Pero la utilización de EAM puede ser perjudicial en el caso de que los niveles de combinación de O₂ y CO₂ alcanzados no sean los adecuados, desencadenando determinadas alteraciones fisiológicas.

La atmósfera de equilibrio alcanzada en el interior de los envases plásticos es determinada por las permeabilidades al O₂ y al CO₂ del polímero utilizado, la actividad respiratoria del producto y la temperatura de almacenamiento. La tecnología EAM facilita el mantenimiento de la atmósfera deseada durante toda la cadena de comercialización desde la cosecha hasta el consumo, pero las atmósferas bajas en O₂ y CO₂ simultáneamente son difíciles de obtener mediante EAM (Artés, 1976 y 1993; Lioutas 1988; Kader *et al.*, 1989; Yahia y Rivera, 1992).

Las bolsas para envasado individual a base de polipropileno perforado (PP) son utilizadas habitualmente en la comercialización de la lechuga Iceberg en España para exportación. Este tipo de envases permiten mantener una elevada HR dentro del envase, reduciendo las pérdidas de peso y minimizando los daños mecánicos, además, su uso constituye una buena práctica higiénica (Artés, 1976). Sin embargo, este envase no permite crear una AM alrededor del producto y, consecuentemente, no puede ser usado para obtener unas condiciones óptimas de almacenamiento.

El preenfriamiento bajo vacío de la lechuga Iceberg es una práctica habitual utilizada en países europeos, incluido España, así como en Estados Unidos. Este tipo de preenfriamiento se aplica generalmente antes de envasar las lechugas en PVC o después de envasarlas en bolsas de polipropileno macroporadas, dependiendo de las especificaciones del mercado al que se destinan (Haas y Gur, 1987; Artés y Martínez, 1994).

La atmósfera puede ser modificada activamente inyectando una mezcla gaseosa seleccionada antes de termosellar la bolsa y/o realizando un vacío parcial (Shewfelt, 1986). Este procedimiento de la técnica EAM se utiliza para obtener atmósferas idóneas nada más termosellar el envase. Los beneficios de esta técnica han sido puestos de manifiesto en diferentes frutas y hortalizas por (Artés, 1976), así como en lechuga después de almacenarse en atmósferas enriquecidas en nitrógeno (Parsons *et al.*, 1964).

El objetivo del presente estudio fue la mejora de la calidad de la lechuga Iceberg, reduciendo sus pérdidas comerciales durante la conservación. Se han probado varios tipos de técnicas dentro del sistema EAM por modificación activa o pasiva de la

atmósfera y diferentes tipos de envases plásticos, junto con el preenfriamiento bajo vacío.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Diseño experimental

La lechuga Iceberg ciclo Salinas (*Lactuca sativa* L.) fue cultivada en Caravaca (Murcia) y cosechada en mayo, junio y julio de 1993. Los resultados obtenidos de las distintas cosechas fueron muy similares. En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos de la lechuga cosechada en junio. Una hora a dos después de cosechadas, las cabezas de lechuga se trasladaron en transporte ventilado a una empresa agrícola situada en Los Alcázares (Murcia), localizada a unos 100 km del cultivo.

Inmediatamente después de la recepción, las cabezas se manipularon de acuerdo con la práctica comercial, eliminando las hojas exteriores hasta un 50% de su peso original hasta dejar únicamente los cogollos. Los diámetros de las cabezas de lechuga variaron entre 13 y 15 cm y pesaron entre 400 y 500 g. Las cabezas libre de defectos se embalaron en cajas de cartón destinadas para 8 piezas. En total se confeccionaron 54 cajas. La mitad de las cajas se almacenaron en una cámara frigorífica a 2°C y 85 - 90% HR, mientras que 21 cajas fueron preenfriadas durante 22 minutos con el fin de reducir la temperatura de las lechugas de 22°C a 1-3°C. Las cabezas de las últimas 6 cajas se envasaron en PP no orientado y macroporoso (33 perforaciones de 2 mm por dm²) y posteriormente preenfriadas bajo vacío. Todas las lechugas preenfriadas bajo vacío se almacenaron rápidamente a 2°C. Una vez finalizado el proceso, todas las cajas se trasladaron en transporte refrigerado a 0,5°C durante 2 horas al laboratorio situado en Murcia, a 45 km de Los Alcázares y entonces conservadas a 2°C y 90-95% HR. Dentro de las cámaras frigoríficas, y con el fin de evitar condensación de agua dentro de los envases, cada cabeza fue pesada y los distintos lotes se envasaron en un nuevo PP de 25 y 50 µm. Al día siguiente, las bolsas de PP se termosellaron (contenían cada una de ellos una pieza de lechuga, a base de PP no orientado y no perforado). Otras lechugas se envasaron individualmente en AM activa y posterior mantenimiento pasivo. Para ello, las cabezas se envasaron en PP no orientado y no perforado de 50 µm de espesor y se reemplazó el aire del interior del envase con una mezcla de 64,7 g/L O₂ y 14,8 g/L CO₂ (N₂ usado como gas balance) o con 21,6 g/L O₂ y 0 g/L CO₂ (N₂ usado como gas balance). El termosellado de las bolsas se hizo al mismo tiempo mientras permanecían dentro de la atmósfera de envasado en el interior de una máquina de vacío EGARVAC con mezclador de gases protectores (CO₂, O₂ y N₂) modelo KM 100-3M. Las cabezas almacenadas sin envase alguno se introdujeron en un recinto de acero de 360 L de volumen dentro de la misma cámara frigorífica. Este recinto fue equipado con un sistema de renovación de aire humidificado a razón de 60 L/h. Después de 2 semanas de almacenamiento refrigerado, simulando un período máximo de transporte marítimo y de almacenamiento, todas las cajas se transfirieron a 12°C y 70-80% HR durante 2,5 días (aproximadamente 60 horas) para simular un período razonable de venta.

6.2.2. Tratamientos y sistemas de envasado

Se evaluaron 12 tratamientos que consistieron en una combinación de envase plástico, preenfriamiento y tipo de generación de la atmósfera: (A) cabezas sin envase (testigo), (B) cabezas sin envase preenfriadas, (C) cabezas envasadas individualmente en PP macroperforado de 22 μm , (D) cabezas preenfriadas y envasadas individualmente en PP macroperforado de 22 μm , (E) cabezas envasadas en PP no perforado de 25 μm , (F) cabezas preenfriadas y envasadas en PP no perforado de 25 μm , (G) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μm , (H) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μm , (I) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μm con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (J) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μm con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (K) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μm con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂, (L) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μm con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂. La permeabilidad al O₂ de la lámina plástica de PP de 25 μm fue 3.547 cm³/m²•día•atm., a 23°C, mientras que el mismo tipo de polímero, pero de 50 μm de espesor fue de 2.296 cm³/m²•día•atm., a la misma temperatura, de acuerdo con el proveedor (Plásticos del Segura, S.L.).

6.2.3. Análisis gaseoso

Se midió a evolución del contenido en O₂, CO₂ y C₂H₄ en el espacio de cabeza de los envases plásticos durante el almacenamiento refrigerado y el período de supervivencia comercial con un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Autosystem, equipado con detectores TCD y FID.

6.2.4. Sistemas de evaluación de la calidad

Las lechugas se examinaron en el laboratorio al principio del almacenamiento (análisis inicial), después del almacenamiento refrigerado y después del período de supervivencia comercial o venta. Las variables evaluadas: atributos sensoriales, aspecto general, marchitamiento, incidencia de podredumbres y alteraciones fisiológicas, se ajustaron a la metodología propuesta por Kader *et al.* (1973). El panel evaluador estuvo compuesto por 5 personas entrenadas (3 hombres y 2 mujeres).

6.2.5. Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con 3 réplicas por tratamiento. Cada caja de cartón constituyó una réplica. Se aplicó análisis de la varianza ($P < 0,05$) y el test de rango múltiple de Duncan para la separación de medias.

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron distintas atmósferas de equilibrio en cada uno de los tratamientos de envasado. Los datos sobre el PP termosellado se presentan en la Fig. 6-1. La composición gaseosa dentro de los envases de PP macroperforado fue 215,7 g/L O₂ y

1,5 g/L CO₂ (prácticamente aire). La concentración de C₂H₄ dentro de las bolsas durante el almacenamiento refrigerado y la supervivencia comercial fue inferior a 0,1 ppm en todos los tratamientos.

Después de 2 semanas a 2°C, las pérdidas de peso fueron más reducidas en las lechugas envasadas con PP termosellado (alrededor de 0,02%), seguido por las cabezas envasadas en PP macroperforado (Tabla 6-1). Las lechugas sin envase presentaron las mayores pérdidas de peso y marchitamiento en grado moderado o severo. En las lechugas envasadas en PP macroperforado se observó un ligero marchitamiento, mientras que no hubo en las lechugas envasadas en PP termosellados. Los efectos del preenfriamiento bajo vacío no fueron significativos en las pérdidas de peso por deshidratación ni en el marchitamiento.

Tabla 6-1. Efecto del preenfriamiento bajo vacío y el envasado sobre las pérdidas de peso por deshidratación y el marchitamiento de la lechuga Iceberg Salinas^z.

Tratamiento ^y	2 semanas a 2°C		2 semanas a 2°C + 2,5 días a 12°C	
	Pérdida peso (%)	Marchitamiento	Pérdida peso (%)	Marchitamiento
A	6,32 a ^x	6,5 ^w a	8,38 a	7,1 a
B	5,97 a	6,3 a	6,37 a	6,6 a
C	0,87 b	3,0 b	1,47 b	3,1 b
D	0,83 b	2,9 b	1,10 b	3,0 b
E	0,03 c	1,2 c	0,05 c	1,7 c
F	0,02 c	1,1 c	0,04 c	1,5 c
G	0,02 c	1,1 c	0,04 c	1,5 c
H	0,01 c	1,0 c	0,03 c	1,2 c
I	0,06 c	1,7 c	0,12 c	2,0 c
J	0,02 c	1,1 c	0,10 c	1,9 c
K	0,03 c	1,2 c	0,04 c	1,5 c
L	0,02 c	1,1 c	0,04 c	1,5 c

^z submuestras de 8 piezas de lechuga y 3 réplicas por tratamiento (24 piezas)

^y los tratamientos fueron: (A) cabezas sin envase (testigo), (B) cabezas sin envase preenfriadas, (C) cabezas envasadas individualmente en PP macroperforado de 22 µm, (D) cabezas preenfriadas y envasadas individualmente en PP macroperforado de 22 µm, (E) cabezas envasadas en PP no perforado de 25 µm, (F) cabezas preenfriadas y envasadas en PP no perforado de 25 µm, (G) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 µm, (H) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 µm, (I) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 µm con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (J) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 µm con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (K) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 µm con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂, (L) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 µm con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂

^x medias separadas en columnas por el test de rango múltiple de Duncan ($P < 0,05$)

^w escala de valoración: 1 - ninguno; 3 - suave; 5 - moderado (límite de aceptabilidad); 7 - severo 9 - extremo

Tras el período de supervivencia comercial a 12°C durante 2,5 días, se observaron ligeras pérdidas de peso y marchitamiento en las lechugas envasadas en PP termosellados. En el otro extremo, las cabezas sin envase presentaron síntomas severos de marchitamiento hasta el punto de no ser comercializables. El efecto de preenfriamiento no fue significativo en las pérdidas de peso ni en el marchitamiento

(Tabla 6-1). Los niveles de pérdidas de peso de lechugas no envasadas y envasadas en PP macroperforado fueron muy similares a aquellos encontrados por Wang *et al.* (1984), después de 2 semanas de almacenamiento de la lechuga a 3°C.

Al final del período de almacenamiento refrigerado se observaron dos alteraciones fisiológicas típicas de la lechuga: mancha canela (“*russet spotting*”) y nervaduras rosáceas (“*pink rib*”) en las lechugas no envasadas y en las envasadas en PP macroperforado (Tabla 6-2: tratamientos A, B, C y D). Estos desórdenes aparecieron generalmente de grados suave a severo en las lechugas almacenadas en AM (tratamientos E, F, G, H, I y J). La severidad de las nervaduras rosáceas pudo estar influenciada por la reducción del nivel de O₂ dentro de las bolsas de PP termoselladas, de acuerdo con las observaciones realizadas sobre la incidencia de las nervaduras rosáceas por Parsons *et al.*, (1964) y por Stewart y Uota, (1976) y para la mancha canela (Ke y Saltveit, Jr., 1989a; Artés y Martínez, 1994). La mancha canela se desarrolló tanto en lechugas no envasadas como en las envasadas, tal y como observaron Pratella y Brigati (1989), que reportaron que la mancha canela podría ser inducida por la exposición a varios ppm de etileno a 5°C, pero también puede aparecer en ambientes libres de etileno. Excepto para las cabezas de lechuga no envasadas (tratamiento A), en las que se incrementó la severidad de la mancha canela, no se observaron diferencias de incidencia entre el período de almacenamiento refrigerado y el período de supervivencia comercial en ninguno de los tratamientos. El desarrollo de las nervaduras rosáceas fue superior al final del período de supervivencia, especialmente en las lechugas almacenadas al aire (tratamientos A, B, C y D). La incidencia y severidad fue superior en las lechugas preenfriadas y envasadas en PP macroperforado, observación que no ha podido ser explicada y no ha sido anteriormente descrita. Sin embargo, en otros estudios se ha puesto de manifiesto que el efecto del preenfriamiento bajo vacío reduce el amarilleamiento y la podredumbre de la lechuga después de sólo 3 semanas de refrigeración a 1°C (Aharoni y Ben-Yehosua, 1973) (Tabla 6-2).

Tabla 6-2. Efecto del preenfriamiento bajo vacío y el envasado sobre el número de cabezas de lechuga Iceberg Salinas con alteraciones fisiológicas y podredumbres^z.

Trata- miento ^y	2 semanas a 2°C									2 semanas a 2°C + 2,5 días a 12°C															
	PR			RS			HLI			BSR			PR			RS			BS		HLI			BSR	
	3 ^x	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	3	4	3	4	6	5	7	
A	2	-	1	11	7	1	-	-	-	1	4	1	3	9	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B	1	2	-	7	8	9	-	-	-	5	2	2	8	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C	6	1	1	3	14	5	-	-	-	2	6	1	3	4	7	-	-	-	-	-	-	-	2	1	
D	3	2	2	5	5	11	-	-	-	4	8	6	7	10	5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
E	-	-	-	5	1	-	3	-	-	-	-	-	5	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
F	1	-	-	1	-	-	4	6	-	1	-	-	3	-	-	-	-	12	3	1	1	1	-	-	
G	-	-	-	4	-	-	2	3	1	-	-	-	3	1	0	3	-	3	-	-	-	1	-	-	
H	1	-	-	2	-	-	3	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	6	2	7	1	1	-	-	
I	-	-	-	4	1	-	2	1	1	-	-	-	4	-	-	7	4	-	2	-	-	1	-	-	
J	1	-	-	-	-	1	6	7	1	-	-	-	2	-	-	8	3	2	2	1	2	2	-	-	
K	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
L	-	-	-	-	1	-	4	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	

^z submuestras de 8 piezas de lechuga y 3 réplicas por tratamiento (24 piezas)

^y ver Tabla 6-1

^x escala de valoración. 1 - ninguno; 3 - suave; 5 - moderado (límite de aceptabilidad); 7 - severo; 9 - extremo

El pardeamiento de las hojas internas (“*heart leaf injury*”) únicamente apareció en las lechugas envasadas en PP termosellado después de 2 semanas de almacenamiento refrigerado, así como después del período de supervivencia comercial de 2,5 días a 12°C. Este pardeamiento fue de moderado a severo en el tratamiento H. El desarrollo de este desorden estuvo correlacionado con altos niveles de CO₂ y bajos de O₂ en las atmósferas del interior de los envases (Tabla 6-2).

En un estudio previo, se puso de manifiesto que las cabezas de lechugas Salinas envasadas individualmente, tanto preenfriadas bajo vacío como no preenfriadas, durante 1 semana de almacenamiento a 2°C y 2,5 días adicionales de supervivencia comercial a 12°C, no presentaron susceptibilidad a daños por CO₂ (mancha parda y pardeamiento de las hojas internas) (Artés y Martínez, 1994). Sin embargo, en el presente estudio, después de 2 semanas a 2°C, si apareció la alteración de pardeamiento de las hojas internas, tanto en lechugas preenfriadas como no preenfriadas, mientras que la mancha parda no apareció. Las lechugas preenfriadas bajo vacío fueron más susceptibles al pardeamiento de las hojas internas que las no preenfriadas. La explicación a esta variación en la susceptibilidad es desconocida, es decir, no podemos atribuir un efecto de incremento de la susceptibilidad a esta alteración por efecto del preenfriamiento. Esta observación, junto con la anteriormente descrita, no han sido puestas de manifiesto anteriormente, por lo que es necesario continuar en esta investigación para poner de manifiesto los factores que influyen la variabilidad en la susceptibilidad a las alteraciones.

Las lechugas, preenfriadas o no, envasadas en PP con una atmósfera inicial de 22,2 g/L CO₂ presentaron mancha parda sólo después del período de 2,5 días a 12°C (tratamientos I y J, Tabla 6-2). Sin embargo, no aparecieron mancha parda ni pardeamiento de las hojas internas en las lechugas no preenfriadas en PP termosellado con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂ y 0 g/L CO₂ (tratamiento K). El desarrollo de la mancha parda fue superior en todos los tratamientos con atmósfera activa inicial de 14,8 g/L CO₂ (tratamientos I y J). La mancha parda no apareció en las lechugas preenfriadas y termoselladas en PP cerradas en aire (en atmósfera pasiva).

La incidencia y severidad de la podredumbre blanda bacteriana (“*bacterial soft rot*”), principalmente por *Erwinia carotovora* fue generalmente independiente del preenfriamiento bajo vacío, probablemente por la alta calidad inicial de las lechugas y por el corto período de almacenamiento refrigerado y supervivencia comercial posterior. No se observó podredumbre bacteriana después de 2 semanas a 2°C en las lechugas sin envase y en las envasadas en PP macroperforado. Se observó un resultado similar en lechuga Salinas durante 1 semana de almacenamiento refrigerado y 2,5 días después tras el período de supervivencia comercial a mayor temperatura (Artés y Martínez, 1994). Este efecto reducido del preenfriamiento bajo vacío sobre la podredumbre está en concordancia con los estudios realizados por Aharoni y Ben-Yehosua (1973) en lechuga romana, que detectaron que los efectos beneficiosos del preenfriamiento bajo vacío podrían ser detectados solamente después de 3 semanas de almacenamiento refrigerado.

Las lechugas envasadas en PP termosellados mantuvieron una elevada calidad visual, claramente superior a las lechugas envasadas en PP macroperforado y no envasadas (Tabla 6-3). En las lechugas envasadas en PP termosellado se obtuvo una buena calidad visual después del período de supervivencia comercial, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Esta buena calidad visual se mantuvo durante el

período de supervivencia, pero solamente en las lechugas envasadas en PP, termosellado o no, mientras que las lechugas sin envasar presentaron un pobre valor de calidad tras este período y no fueron comercializables. No se detectaron diferencias en calidad visual entre los tratamientos de AM activas o pasivas. Estas observaciones han sido previamente reportadas (Stanley, 1989; Artés y Martínez, 1994).

Tabla 6-3. Efecto de preenfriamiento bajo vacío y el envasado sobre la calidad visual global de lechuga Iceberg ciclo Salinas^z.

Tratamiento ^y	Inicial no preenfriado	Inicial preenfriado	2 semanas a 2°C	2 semanas a 2°C + 2,5 días a 12°C
A	8,8 ^x	-	4,5 c ^w	3,3 c
B	-	8.6	4,9 c	3,1 c
C	8,8	-	5,7 b	5,2 b
D	-	8.6	5,9 b	5,5 b
E	8,8	-	7,1 a	7,0 a
F	-	8.6	7,4 a	7,2 a
G	8,8	-	7,1 a	7,0 a
H	-	8.6	7,5 a	7,4 a
I	8,8	-	6,5 ab	6,4 ab
J	-	8.6	6,7 ab	5,9 ab
K	8,8	-	7,1 a	7,0 a
L	-	8,6	7,2 a	7,0 a

^z submuestras de 8 piezas de lechuga y 3 réplicas por tratamiento (24 piezas)

^y ver Tabla 6-1

^x escala de valoración. 9 - excelente; 7 - bueno; 5 - moderado (límite de aceptabilidad); 3 - pobre; 1 - extremadamente pobre

^w los valores medios dentro de la misma columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes a $P < 0,05$, de acuerdo con el test de rango múltiple de Duncan

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que existieron claras diferencias en la respuesta de la lechuga Salinas al tipo de envasado y generación de la AM. El escaso efecto del preenfriamiento bajo vacío sobre las pérdidas de agua por deshidratación, marchitamiento, calidad visual e incidencia y severidad de podredumbres y alteraciones fisiológicas respecto al almacenamiento frigorífico sin preenfriamiento previo, pudo ser atribuido a la rapidez de manipulación y enfriamiento en cámara frigorífica convencional que se hizo al principio de la experiencia. El mejor resultado para reducir las pérdidas y mantener la calidad de la lechuga Salinas se obtuvo con la generación activa de una atmósfera inicial de (21,6 g/L O₂-0 g/L CO₂) en envases de PP 50 µm termosellados, seguido de la lechuga no preenfriada y envasada de forma pasiva en PP 50 µm termosellado.

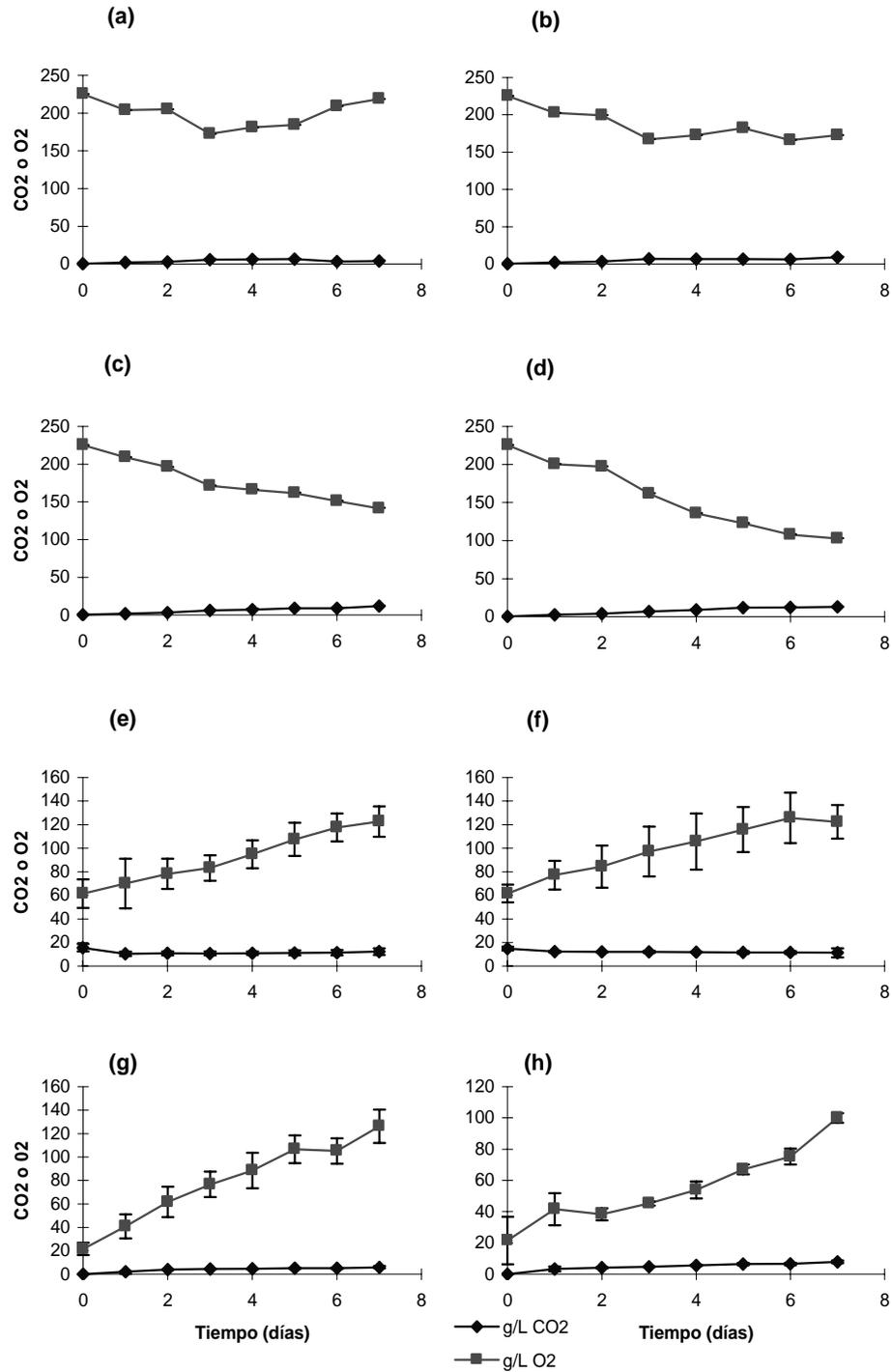


Fig. 6-1. Evolución de la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en lechuga envasada en AM conservada a 2°C durante 7 días. (a) cabezas envasadas en PP no perforado de 25 μ m, (b) cabezas preenfriadas y envasadas en PP no perforado de 25 μ m, (c) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μ m, (d) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μ m, (e) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μ m con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (f) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μ m con atmósfera activa inicial de 64,7 g/L O₂; 14,8 g/L CO₂, (g) cabezas envasadas en PP no perforado de 50 μ m con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂, (h) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 50 μ m con atmósfera activa inicial de 21,6 g/L O₂; 0 g/L CO₂ Cada punto representa el valor medio de 3 réplicas. Las barras verticales representan a desviación estándar.

**7. INFLUENCIA DEL ENVASADO Y DEL PREENFRIAMIENTO
SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHUGA ICEBERG DE
INVIERNO**

7. INFLUENCIA DEL ENVASADO Y DEL PREENFRIAMIENTO SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHUGA ICEBERG DE INVIERNO

RESUMEN. Se envasaron cogollos de lechuga Iceberg ciclo Coolguard (*Lactuca sativa* L., cv. Coolguard), individualmente en películas plásticas de polipropileno (PP) no orientado y microperforado de 22 μm de espesor y en nuevas películas de polipropileno no microperforado, de 25, 30 y 40 μm de espesor. Las lechugas se almacenaron durante 2 semanas a 2°C y posteriormente a 12°C durante 2,5 días. Se establecieron 5 tratamientos de envasado junto con una modificación pasiva o activa de la atmósfera. Las lechugas se sometieron o no a un preenfriamiento bajo vacío en cada uno de los tratamientos de envasado. Se determinó la calidad de la lechuga determinando las pérdidas de peso por deshidratación, marchitamiento, incidencia de alteraciones fisiológicas, podredumbre bacteriana y la calidad global visual. Las nervaduras rosáceas y la mancha canela aparecieron en todos los tratamientos en grado suave. La mancha parda y el daño del cogollo interior sólo se detectaron en las piezas con película plástica no perforada. Una modificación suave de la atmósfera de aire dentro de los envases no perforados fue beneficiosa para reducir las pérdidas de peso, el marchitamiento y para mejorar la calidad visual. La reducción del O₂ se correlacionó con una mejora de la calidad visual. Los tratamientos correspondientes a las lechugas envasadas en PP de 40 μm con generación pasiva de la atmósfera y en PP de 30 μm con generación activa (5% O₂ y 0% CO₂), fueron los mejores en calidad visual. La generación activa de la atmósfera con el uso del PP de 40 μm , en su conjunto, no mejoró la calidad de las lechugas en relación a la mejora obtenida utilizando la generación pasiva de la atmósfera. El preenfriamiento bajo vacío presentó beneficios claros en la reducción de las nervaduras rosáceas y del daño del cogollo interior durante el período de almacenamiento a 12°C.

ABSTRACT. Heads of winter harvested Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L. cv Coolguard) individually packed or sealed in perforated (22 μm thickness) or unperforated (25, 30 or 40 μm thickness) polypropylene films were stored up to 2 weeks at 2°C and then held for 2.5 days at 12°C. Five packaging treatments together with passive or active modification of the atmosphere within the package were applied. Vacuum-cooling was superimposed on these five treatments. Weight loss, wilting, physiological disorders, bacterial decay and quality were monitored. In all treatments, both pink rib and russet spotting a slight degree of severity appeared. Brown stain and heart leaf injury were only detected on heads in unperforated bags. The relatively slight modification of the atmosphere caused by unperforated bags treatments was beneficial for reducing weight loss and wilting and for improving quality. Low oxygen was generally related to a high quality score. Passive MAP in 40 μm PP and active (initial 5% O₂ and 0% CO₂) MAP in 30 μm PP were the best treatments for overall visual quality. No additional improving quality of active MAP with respect to 40 μm PP passive MAP treatment was observed. Vacuum-cooling showed a favourable effect on reducing both pink rib and heart leaf injury only during shelf-life period.

7.1. INTRODUCCIÓN

El envasado individual de la lechuga en películas plásticas poliméricas, es decir, bajo EAM, ha permitido obtener los beneficios potenciales de la técnica de AC en cámaras frigoríficas convencionales y durante la manipulación poscosecha, incluido el transporte refrigerado. Los efectos beneficiosos de la modificación de la atmósfera de almacenamiento de la lechuga por el uso de la técnica EAM (1-5 % O₂ y 0-2,5 % CO₂) han sido reportados (Shewfelt, 1986; Kader *et al.*, 1989; Kader, 1990a; Gorris y Peppelenbos, 1992; Couture *et al.*, 1993). Estos efectos son importantes especialmente para prolongar la supervivencia comercial, retrasar de la senescencia entre 0 y 5°C y reducir las alteraciones fisiológicas relacionadas con las bajas temperaturas. Sin embargo, algunos efectos perjudiciales tales como la mancha parda (“*brown stain*”), que aparece utilizando EAM, han sido atribuidos a la relativa alta concentración de CO₂ de la atmósfera del interior de los envases (Lipton, 1987). En EAM de generación pasiva, es difícil obtener rápidamente bajos niveles de O₂ y de CO₂ dentro de los envases, lo cual es esencial para la mejora de la calidad comercial de la lechuga (Kader *et al.*, 1989; Artés, 1993). Consecuentemente, la modificación activa de la atmósfera, combinada o no con un sistema de envasado con vacío parcial para reducir el espacio de cabeza del envase, debe ser aplicado (Kader *et al.*, 1989; Gorris y Peppelenbos, 1992; Artés y Martínez, 1996).

El envasado de la lechuga en bolsas perforadas, principalmente en polipropileno (PP) macroporoso, permite mantener la HR elevada dentro de los envases, de esta manera se reduce las pérdidas de peso por deshidratación y los daños mecánicos. Este procedimiento permite además mantener las lechugas en mejores condiciones higiénicas y microbiológicas. Sin embargo, no puede promover unas condiciones óptimas de almacenamiento porque no puede crear una AM alrededor del vegetal. Adicionalmente, el preenfriamiento bajo vacío es comúnmente utilizado en la lechuga Iceberg antes del envasado en plásticos extensibles a base de cloruro de polivinilo o polietileno de baja densidad no perforados o después del envasado en bolsas de polipropileno (PP) macroporoso (Aharoni y Ben-Yehosua, 1973; Haas y Gur, 1987; Artés y Martínez, 1996). No obstante, los estudios realizados combinando el preenfriamiento bajo vacío y el envasado bajo vacío con una inyección concomitante de una atmósfera establecida justo antes de termosellar las bolsas (modificación activa de la atmósfera en EAM), han puesto de manifiesto unos resultados prometedores (Gorris y Peppelenbos, 1992).

Hasta el momento, no hemos encontrado estudios sobre las aplicaciones de EAM en la lechuga Iceberg de invierno. El presente estudio ha sido realizado para evaluar varios tipos de técnicas que se basan en EAM, combinados o no con preenfriamiento bajo vacío, con el fin de mejorar la calidad comercial de la lechuga Iceberg cultivada en invierno.

7.2. MATERIALES Y MÉTODOS

7.2.1. Diseño experimental y métodos de envasado

Los cultivos de lechuga Iceberg (*Lactuca sativa* L.) ciclo Coolguard se localizaron en el término de Torre Pacheco (Murcia), creciendo bajo condiciones típicas

de clima mediterráneo. Se cosechó en febrero y en marzo. Los resultados obtenidos en los diferentes cultivos fueron bastante similares a los obtenidos en la cosecha del 10 de marzo; resultados estos últimos, que son analizados y comentados en el presente estudio.

Aproximadamente 1 hora tras la cosecha, las lechugas se transportaron en un camión ventilado a temperatura ambiental una distancia total de 10 km a la cooperativa San Cayetano (San Javier, Murcia). Inmediatamente después de la recepción, las lechugas se manipularon de acuerdo con la práctica comercial habitual y se destrió eliminando las hojas externas, aproximadamente de 25 a 30% del peso en la cosecha. El diámetro de los cabezas de lechuga varió entre 12 y 15 cm y pesaron de 630 a 980 g. Las cabezas libres de defectos se embalaron en 63 cajas de cartón, con un total de 8 lechugas por caja. La mitad de estas cajas (30) se almacenaron directamente en una cámara frigorífica a 2°C y 85-90% HR, el resto (30) se preenfriaron bajo vacío durante aproximadamente 20 minutos hasta reducir la temperatura interna de las cabezas, alrededor de 20°C, hasta 1-3°C. Las lechugas de 6 cajas se envasaron en PP macroperforado (33 agujeros de 2 mm por dm²) antes de ser preenfriadas. Todas las cajas preenfriadas se almacenaron inmediatamente después del preenfriamiento a 2°C. Las cajas confeccionadas de la manera explicada anteriormente se trasladaron durante 2 horas a 0,5°C al laboratorio de Murcia, situado a 35 km de distancia, y almacenadas en una cámara frigorífica a 2°C y 90-95% HR. Entonces, las cabezas de lechuga se pesaron y empaquetaron a 2°C en PP no orientado y no perforado de 25 o 40 µm de espesor y almacenadas a la misma temperatura para evitar la condensación de agua. Al siguiente día, todas las bolsas que contenían una lechuga en PP no perforado se termosellaron. El resto de lechugas se envasó bajo modificación activa de la atmósfera colocando cabezas individuales en bolsas de PP no orientado y no perforado de 30 µm de espesor, reemplazando el aire del interior de la bolsa inyectando N₂ hasta alcanzar 5 % O₂ y 0 % CO₂ (resto N₂). Las bolsas se termosellaron dentro de la máquina de inyección de gases y de envasado bajo vacío CV-60G, dotada con un mezclador de gases modelo KM 100-3M (Zermat, Sabadell, Spain). Las lechugas sin ningún tipo de envase plástico individual se introdujeron en una cámara de acero inoxidable de 360 L de capacidad equipada con un renovador de aire sobrehumidificado con un flujo de 60 L/h, como se ha descrito en Artés *et al.*, (1993) y Fernández-Trujillo y Artés, (1997). Estos dispositivos se localizaron en la misma cámara frigorífica a 2°C y 90-95% HR.

Se establecieron los siguientes 5 tratamientos de envasado: A – sin envase, B – PP macroperforado (PPP), C - 25 µm PP EAM (PPS25), D - 40 µm PP EAM (PPS40), y E - 30 µm PP EAM activa. Cada tratamiento contenía, en partes iguales, lechugas preenfriadas y no preenfriadas.

Después de 2 semanas de almacenamiento refrigerado, con el fin de simular una duración máxima de conservación o transporte marítimo en Europa, la mitad de las cajas que contenían todos los tratamientos se analizaron y la otra mitad se transfirieron durante 2,5 días a 12°C y 70 - 75% HR (60 h aproximadamente) con el fin de simular un período razonable de supervivencia comercial.

7.2.2. Permeabilidad a los gases

De acuerdo con nuestros propios datos (Artés *et al.*, 1998b), los valores de permeabilidad al O₂ del PP [amol•mm/(m•s•Pa)], fueron 10,7 a 2°C y 13,9 a 12°C, mientras que los del CO₂ fueron 22,9 y 40,9 a 2°C y 12°C respectivamente. De acuerdo con los datos suministrados por el proveedor de los plásticos (Plásticos del Segura, S.L., Murcia), la permeabilidad al vapor de agua del PP (20 µm de espesor) fue 8,5 g/(m²•día) a 38°C y 90% HR.

7.2.3. Evaluación de las alteraciones

Se aplicó un índice de alteraciones, que mide la incidencia y severidad de los desórdenes fisiológicos y microbiológicos, con el fin de comparar los efectos de los distintos tratamientos. Con este fin, se aplicó la siguiente ecuación adaptada de Fernández-Trujillo *et al.*, (1998) (ecuación 7-1):

$$IA = [(1 \bullet Nn) + (2 \bullet Nvs) + (3 \bullet Ns) + (4 \bullet Nm) + (5 \bullet Nse)] \bullet Nf^{-1} \quad (7-1)$$

donde, *Nn*, *Nvs*, *Ns*, *Nm*, y *Nse* representan el número medio de cabezas de lechuga afectadas por una determinada alteración y su severidad de acuerdo con la categoría: ninguna, muy leve, leve, moderado, y severo, respectivamente. El valor de este índice varía entre 1 - libre de alteración, hasta 5 - severo. Las categorías moderado (4) y severo (5) se consideraron como comercialmente inaceptables.

7.2.4. Análisis de gases

Se analizaron las concentraciones de O₂, CO₂, y C₂H₄ dentro de los envases plásticos, durante el almacenamiento y posterior supervivencia comercial, utilizando un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Autosystem (Norwalk, Connecticut. EE.UU.), equipado con un detector de conductividad térmica y de ionización de llama. Se utilizó una columna de porapak QS 80/100 para detectar C₂H₄ y CO₂, y una columna molecular sieve 5A, 45/60 para el O₂ y el N₂.

7.2.5. Sistemas de evaluación de la calidad

Las cabezas de lechuga se examinaron en el laboratorio al inicio de la experiencia, después del período de almacenamiento refrigerado y tras del período de supervivencia comercial. Este análisis se llevó a cabo con un panel de 5 investigadores con experiencia (3 hombres y 2 mujeres). Se evaluaron los atributos sensoriales, el aspecto general, el marchitamiento, la podredumbre blanda bacteriana y las alteraciones fisiológicas. Para ello, se utilizó la siguiente escala de valoración: 9 - excelente, 7 - bueno, 5 - moderado (límite de aceptabilidad), 3 - pobre, 1 - extremadamente pobre (Artés y Martínez, 1996).

7.2.6. Análisis estadístico

El diseño planteado fue completamente aleatorizado de tipo factorial con 5 tratamientos de envasado x 2 tratamientos de preenfriado x 2 condiciones de almacenamiento: refrigeración y refrigeración seguida de supervivencia comercial, utilizando 3 réplicas por tratamiento. Cada caja de cartón constituyó 1 réplica con 8 submuestras (cabezas de lechuga). Se ejecutó el ANOVA para poner de manifiesto los efectos de las condiciones de almacenamiento, el preenfriamiento bajo vacío y el tratamiento de envasado sobre la calidad visual global, las pérdidas de peso, el marchitamiento y las alteraciones. Excepto para el caso de las alteraciones, el resto de variables se analizaron separadamente para las lechugas sin envase, PP macroperforado, y tratamientos EAM. Se incluyeron dentro del mismo grupo a los tratamientos EAM y PP macroperforado con el fin de evaluar la calidad visual global. Esta diferenciación es debida a que el análisis de los gráficos de probabilidad normal reveló la presencia de 2 o 3 poblaciones. Las submuestras dentro de los replicados indicaron que se utilizó la distribución normal en todos los casos, por tanto no fue necesario transformar ningún dato. El test del LSD se aplicó para separar medias en el caso de que el ANOVA detectara diferencias significativas.

7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.3.1. Composición gaseosa

El estado de equilibrio de la atmósfera en el interior de los envases se estableció entre los días 3 y 4 (Fig. 7-1). La composición media gaseosa dentro de los envases de PP macroperforados en esta situación fue 19,9% O₂ y 0,1% CO₂ (prácticamente aire). La concentración de C₂H₄ dentro de las bolsas durante el almacenamiento y durante el período de supervivencia comercial en todos los tratamientos fue menor de 0,1 ppm.

7.3.2. Pérdidas de peso y marchitamiento

Tras el período de supervivencia comercial, se detectaron 3 poblaciones de pérdidas de peso por deshidratación las cuales se analizaron independientemente (sección de Materiales y Métodos). Las menores pérdidas de peso se obtuvieron en los tratamientos EAM (menos de 0,1%), mientras que las lechugas envasadas en PP macroperforado perdieron menos de 0,93% (Tabla 7-1). Como es lógico, las lechugas almacenadas sin envase presentaron las mayores pérdidas de peso (superiores a 4,75%), y síntomas severos de marchitamiento, que las hicieron incomercializables. No se detectó marchitamiento apreciable en las lechugas envasadas en PP termosellado, mientras que este marchitamiento fue mínimo en las piezas envasadas en PP macroperforado. El preenfriamiento bajo vacío no tuvo efectos significativos en la modificación de las pérdidas de peso y marchitamiento (Tablas 7-1 y 7-2). Como era de esperar, se incrementaron las pérdidas de peso y el marchitamiento después de transferir las lechugas a una temperatura superior para simular un período de supervivencia comercial.

Los valores de pérdidas de peso de las lechugas no envasadas y de las piezas envasadas en PP macroperforado en este estudio fueron muy similares a los obtenidos por Wang *et al.*, (1984), después de 2 semanas de almacenamiento a 3°C en un ciclo desconocido de lechuga Iceberg, y ligeramente menores a los obtenidos en lechuga Iceberg ciclo Salinas (Artés y Martínez, 1996).

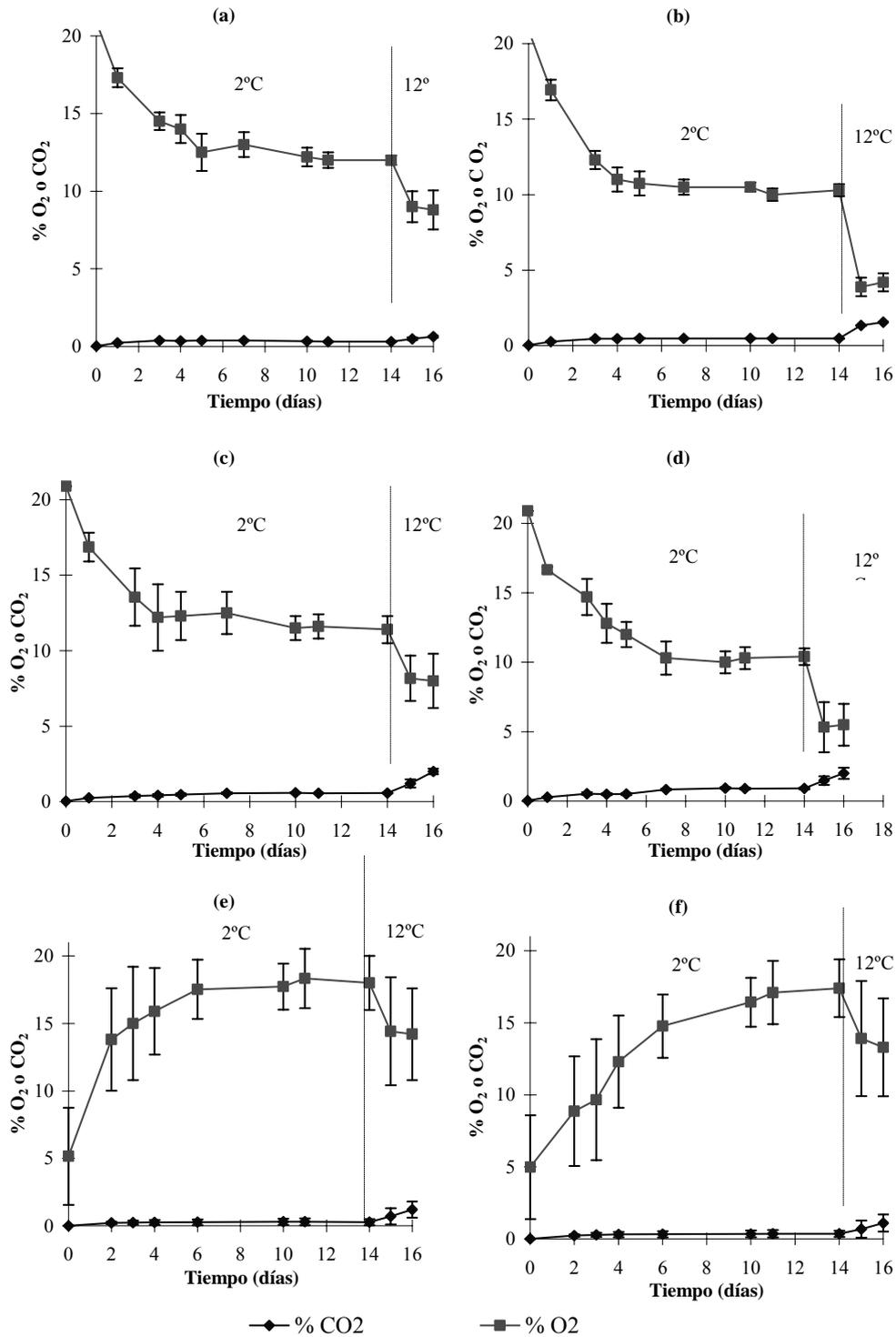


Fig. 7-1. Evolución de los niveles de O₂ y CO₂ (%) en el interior de los envases de lechuga Iceberg ciclo Coolguard a 2°C durante 2 semanas y tras 2,5 días a 12°C. Cada punto representa el valor medio de 3 réplicas. (a) cabezas envasadas en PP no perforado de 25 μ m; (b) cabezas preenfriadas y envasadas en PP no perforado de 25 μ m; (c) cabezas envasadas en PP no perforado de 40 μ m; (d) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 40 μ m; (e) cabezas envasadas en PP no perforado de 30 μ m con atmósfera activa inicial de 5% O₂ y 0% CO₂; (f) cabezas preenfriadas envasadas en PP no perforado de 30 μ m con atmósfera activa inicial de 5% O₂ y 0% CO₂. Las líneas verticales representan la desviación estándar.

Tabla 7-1. Valores promedio y significación de las pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual en la lechuga Iceberg ciclo Coolguard después del almacenamiento, envasada en polipropileno macroperforado (PPP) y no envasada.

Nivel	Sin envase			PPP		
	Pérdidas peso (%)	Marchitamiento	Calidad	Pérdidas peso (%)	Marchitamiento	Calidad
Período						
14 días a 2°C	4,77 ^z	7,27 ^y	2,74 ^x	0,55	2,75	6,25
14 días a 2°C + 2,5 días a 12°C	7,29	7,29	2,67	0,91	3,43	6,17
Error estándar ^w	0,12	0,06	0,05	0,01	0,20	0,15
LSD ($P \leq 0,05$)	0,38	0,20	0,15	0,05	0,69	0,61
Preenfriamiento						
si	6,26	7,22	2,72	0,74	3,15	6,22
no	5,80	7,33	2,69	0,72	3,03	6,20
Error estándar	0,12	0,06	0,05	0,01	0,20	0,15
LSD ($P \leq 0,05$)	0,38	0,20	0,15	0,05	0,71	0,61
Preenfriamiento	Período (días)					
si	14	4,75	7,23	2,73	0,58	6,20
	16,5	7,78	7,22	2,70	0,90	6,25
no	14	4,79	7,30	2,75	0,52	6,30
	16,5	6,81	7,37	2,63	0,92	6,10
Error estándar		0,17	0,08	0,07	0,02	0,22
LSD ($P \leq 0,05$)		0,57	0,29	0,22	0,07	0,92

^z % pérdida de peso respecto al peso fresco inicial

^y escala de valoración: 1 - ninguno; 3 - suave; 5 - moderado (límite de aceptabilidad); 7 - severo; 9 - extremo.

^x escala de valoración: 9 - excelente; 7 - bueno; 5 - aceptable (límite de aceptabilidad); 3 - malo; 1 - extremadamente malo

Tabla 7-2. Análisis de la varianza (% de la suma total de cuadrados y probabilidad^z) de las pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual de la lechuga Iceberg ciclo Coolguard envasada en polímeros no macroperforados después de 14 días a 2°C o 14 días a 2°C + 2,5 días a 12°C.

Fuente de variación	GL ^y	Pérdidas peso	Marchitamiento	Calidad
Efectos principales				
A: Período almacenamiento	1	47,93 * * *	8,79 n. s.	24,80 *
B: Tipo de envasado	2	9,56 * *	2,64 n. s.	10,78 * * *
C: Preenfriamiento	1	0,26 n.s.	6,52 n. s.	4,02 n. s.
Interacciones				
A x B	2	4,83 n.s.	2,59 n. s.	10,39 *
A x C	1	0,26 n.s.	7,86 n. s.	0,47 *
B x C	2	1,61 n.s.	3,90 n. s.	6,12 n. s.
A x B x C	2	0,43 n.s.	3,41 n. s.	4,17 n. s.
Residuo	24	35,11	64,50	36,40

^z n. s. no significativo. * * * $P \leq 0,0001$; * * $P \leq 0,001$; * $P \leq 0,05$

^y grados de libertad

7.3.3. Alteraciones

Las alteraciones fisiológicas que se observaron al finalizar el período de almacenamiento refrigerado fueron la mancha parda (“*brown stain*”-BNS), muy frecuente, mientras que las nervaduras rosáceas (“*pink rib*”-PR), sólo apareció de manera suave. Respecto a la incidencia de la mancha canela (“*russet spotting*”-RS), o bien no apareció o, cuando lo hizo, fue muy leve en todos los tratamientos. El preenfriamiento bajo vacío tuvo un efecto favorable en la reducción de PR, pero únicamente después del período de supervivencia comercial (Tabla 7-3). Esta alteración tuvo especial incidencia en las lechugas almacenadas sin envase, durante el período de supervivencia comercial a 12°C, alcanzando el máximo valor del índice de alteraciones (2,75 - suave a moderado). Los mejores tratamientos para reducir PR se obtuvieron por medio del uso de EAM activa o pasiva (Tabla 7-4 – índice menor de 1,71). Este efecto favorable se debió probablemente a los beneficios obtenidos de la modificación de la atmósfera dentro de los envases (Fig. 7-1), confirmando nuestros resultados sobre el ciclo Salinas (Artés y Martínez, 1996). De esta manera, se ha concluido que una reducción moderada del O₂ dentro de los envases podría ser beneficiosa para reducir el PR.

Tabla 7-3. Análisis de la varianza (en porcentaje de la suma total de cuadrados y probabilidad^z) de la incidencia y severidad de alteraciones después de 14 días a 2°C y 14 días a 2°C más 2,5 días a 13°C.

Fuente de variación	GL ^y	Nervaduras rosáceas	Mancha canela	Mancha parda	Pardeamiento hojas internas	Podredumbre blanda bacteriana
Efectos principales						
A: Período conservación	1	1,92 **	0 n.s.	2,98 n.s.	4,85 n.s.	0,22 n.s.
B: Tipo envasado	4	43,30 ***	30,32 ***	13,29 n.s.	7,77 n.s.	11,76 n.s.
C: Preenfriamiento	1	0,60 n.s.	0,49 n.s.	4,29 n.s.	4,85 n.s.	1,96 n.s.
Interacciones						
A x B	4	20,30 ***	2,07 n.s.	2,68 n.s.	7,77 n.s.	11,76 n.s.
A x C	1	2,74 **	0,10 n.s.	0,48 n.s.	4,85 n.s.	0,22 n.s.
B x C	4	0,33 n.s.	4,25 n.s.	6,73 n.s.	7,77 n.s.	5,66 n.s.
A x B x C	4	12,76 ***	2,38 n.s.	7,57 n.s.	7,77 n.s.	7,41 n.s.
Residuo	40	18,05	60,37	61,98	54,37	61,00

^z n.s. no significativo. *** $P \leq 0,001$; ** $P \leq 0,05$

^y grados de libertad

Se detectaron también los desórdenes pardeamiento de las hojas internas (“*heart-leaf injury*”-HLI), debido a la elevación del CO₂, y la podredumbre blanda bacteriana (“*bacterial soft rot*”-BSR), debida a *Erwinia carotovora*.

El índice de severidad de RS fue más elevado en las lechugas almacenadas sin envase, en PP macroperforado y en PP EAM de 40 µm (Tabla 7-5). Siempre fue detectada una leve incidencia de RS, con valores comprendidos entre 1,40 a 1,67 en todos los tratamientos, que no pudo ser completamente explicada bajo almacenamientos en atmósfera de aire, ya que no se acumuló etileno. Este comportamiento podría poner

de manifiesto la hipótesis de que RS puede inducirse por otros efectos diferentes al etileno.

Tabla 7-4. Índice de nervaduras rosáceas de lechuga Iceberg ciclo Coolguard para las combinaciones de tratamiento de envasado y período de conservación, englobando las réplicas y ambos niveles de preenfriamiento (lechugas preenfriadas y no preenfriadas).

Nivel	Tipo de envasado				
	Período de conservación	Sin envase	PPP	25 µm PP pasiva	40 µm PP pasiva
14 días a 2°C	1,50 ^z	2,15	1,71	1,25	1,25
14 días a 2°C más 2,5 días a 12°C	2,75	2,12	1,39	1,33	1,10
EEM ^y = 0,13					

^z cada valor medio fue calculado a partir de 6 observaciones (3 réplicas x 2 niveles de preenfriamiento - si/no). Los valores representan los índices de nervaduras rosáceas calculados a partir de la ecuación 7-1. Escala de valoración: 1 - ninguno; 2 - suave; 3 - moderado (límite de aceptabilidad); 4 - severo; 5 - extremo

^y error estándar de la media (60 GL) basados en el cuadrado medio del error del análisis de varianza

Tabla 7-5. Promedio de los efectos principales correspondiente a varios desórdenes aparecidos en la lechuga Iceberg ciclo Coolguard después del almacenamiento, cuando las interacciones no fueron significativas.

Media efectos principales														
Tratamiento	RS ^z	BNS	HLI	BSR	Período	RS	BNS	HLI	BSR	VC	RS	BNS	HLI	BSR
Sin envase	1,40 _y	1,00	1,00	1,01	14 d 2°C	1,25	1,02	1,00	1,02	Si	1,27	1,02	1,00	1,01
PPP	1,53	1,00	1,00	1,04	14 d 2°C + 2.5 d 12°C	1,25	1,07	1,06	1,02	No	1,23	1,07	1,06	1,02
25 µm PP pasiva	1,09	1,04	1,00	1,01										
40 µm PP pasiva	1,67	1,11	1,06	1,00										
30 µm PP activa	1,07	1,07	1,09	1,03										
EEM ^x	0,09	0,03	0,04	0,01	EEM	0,06	0,01	0,02	0,01	EEM	0,06	0,02	0,02	0,01

^z RS - “*russet spotting*” (mancha canela); BNS - “*brown stain*” (mancha parda); HLI - “*heart leaf injury*” (pardeamiento hojas internas); BSR - “*bacterial soft rot*” (podredumbre blanda bacteriana)

^y los valores representan los índices de las alteraciones calculados con la ecuación 7-1. Escala de valoración: 1 - ninguno; 2 - suave; 3 - moderado (límite de aceptabilidad); 4 - severo; 5 - extremo

^x error estándar de la media

La incidencia y severidad del PR y, al mismo tiempo, la del RS discreparon a los encontrados en el ciclo Salinas bajo tratamientos similares (Artés y Martínez, 1996). Sin embargo, es claro que se produjo una reducción general de ambos desórdenes bajo EAM (Ke y Saltveit, Jr., 1989a; Artés y Martínez, 1996).

En referencia al desarrollo de los daños por CO₂, BNS se detectó en la lechuga almacenada en PP termosellado de 40 µm debido a las altas acumulaciones de este gas (Fig. 7-1-1,11, muy suave). HLI se detectó con una escasa severidad en PP termosellado de 40 µm y en PP EAM activa de 30 µm (índices de 1,06 y 1,09 respectivamente - prácticamente ausente, Tabla 7-5). Como fue de esperar, no aparecieron ni BNS ni HLI en las lechugas almacenadas sin envase y en las envasadas en PP macroperforado.

HLI incrementó durante el período de supervivencia comercial en las lechugas no preenfriadas. Al mismo tiempo, esta alteración fisiológica fue más relevante después del período de comercialización que tras el almacenamiento refrigerado.

En otros estudios ha sido puesto de manifiesto que que el envasado individual de lechuga Iceberg ciclo Salinas, preenfriadas bajo vacío o no preenfriadas, presentaron HLI después de 2 semanas a 2°C, mientras que BNS no apareció (Artés y Martínez, 1996). En comparación con el comportamiento del ciclo Salinas, bajo condiciones similares, el ciclo Coolguard pareció ser considerablemente menos susceptible a los daños por CO₂ después del almacenamiento frigorífico así como del período de supervivencia comercial.

BSR se desarrolló de forma suave independientemente del preenfriamiento o de las condiciones de almacenamiento, probablemente por la elevada calidad de la lechuga obtenida en el momento de la cosecha (Tabla 7-5) y a la relativa duración del almacenamiento refrigerado y supervivencia comercial. La proliferación bacteriana pudo ser debida a la elevada HR que se produjo dentro de los envases. Se observó que BSR no apareció en las lechugas almacenadas en PP EAM de 40 µm, a pesar de la elevada HR que se produjo alrededor del producto, y tuvo una escasa incidencia en PP macroperforado y en EAM activa de 30 µm PP (índices de 1,04 y 1,03 respectivamente). Este resultado está de acuerdo con aquellos obtenidos en lechuga Romana donde se apreciaron efectos favorables del preenfriamiento bajo vacío sobre la reducción de la podredumbre bacteriana únicamente después de 3 semanas de almacenamiento refrigerado (Aharoni y Ben-Yehosua, 1973), y confirma las observaciones sobre el ciclo Salinas (Artés y Martínez, 1996). No se puede atribuir efectos bacteriostáticos del CO₂ sobre esta alteración en los tratamientos realizados debido a que las concentraciones alcanzadas por este gas fueron bastante bajas en el interior de todos los envases.

7.3.4. Calidad visual global

Las cabezas de lechuga almacenadas en PP no perforado presentaron una mayor calidad visual (de 5,9 a 6,7 al final del experimento. Fig. 7-2) que las lechugas no envasadas. Estas últimas presentaron los peores índices de calidad hasta el punto de resultar inercializables (promedio de 2,7 - pobre), mientras que las envasadas en PP macroperforado tuvieron un índice de 6,2 (Tabla 7-1). La relativa alta calidad visual

mostrada por las lechugas envasadas en PP macroperforado (Tabla 7-1) discrepó con los reportados en otros estudios e investigadores (Stanley, 1989; Artés y Martínez, 1996).

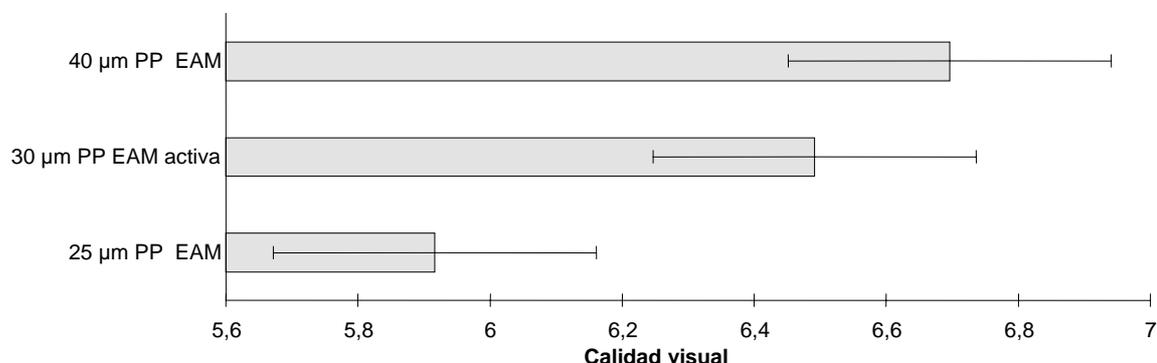


Fig. 7-2. Efecto del envasado sobre la calidad de lechuga Iceberg ciclo Coolguard al final del experimento. Las líneas horizontales corresponden a la longitud de los intervalos LSD a $P \leq 0,05$.

La calidad visual obtenida dentro de los tratamientos EAM fue más elevada en PP EAM de 40 µm que en PP EAM de 25 µm (Fig. 7-2). Sin embargo, no se detectaron diferencias notables de calidad entre las lechugas envasadas en PP no perforados (EAM) y las envasadas en PP macroperforado.

7.4. CONCLUSIONES

Con el fin de reducir las pérdidas de peso, el marchitamiento, y mejorar la calidad de la lechuga Iceberg de invierno Coolguard durante 2 semanas a 2°C, seguido de 2,5 días a 12°C, se debe de utilizar PP no perforado y termosellado con una adecuada permeabilidad a los gases metabólicos. Una relativa baja modificación de la atmósfera en el interior de los envases fue suficiente para reducir las alteraciones fisiológicas y para evitar los riesgos de daños por CO₂.

El preenfriamiento bajo vacío fue útil solamente para reducir la incidencia de las nervaduras rosáceas y de pardeamiento de las hojas internas durante el período de supervivencia comercial. El envasado de las lechugas en EAM activa no mejoró la calidad de las lechugas en relación al envasado en PP pasiva de 40 µm o los tratamientos EAM en general.

El presente trabajo fue publicado con la siguiente referencia:

Autores (p.o. de firma): **Martínez, J.A.**, Artés, F.

Título: Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested iceberg lettuce.

Ref. Revista: Food Research International.

Área JCR (Science Edition): Índice de Impacto: 0.409 Tercio en el que está
Food Science & Technology. incluida: 2°

Clave: A Volumen: 32 Páginas, inicial: 621 Final: 627 Fecha: 1999

**8. MEJORA DE LA CONSERVACIÓN DE LA LECHUGA
ACOGOLLADA MEDIANTE ENVASES DE POLIPROPILENO
NO PERFORADO**

8. MEJORA DE LA CONSERVACIÓN DE LA LECHUGA ACOGOLLADA MEDIANTE ENVASES DE POLIPROPILENO NO PERFORADO

RESUMEN. Se estudió la prerrefrigeración bajo vacío en la calidad de lechugas acogolladas envasadas en los diferentes polímeros y conservadas a 2°C y 90-95% HR durante 14 días, seguidos de 2,5 días de comercialización a 13°C y 70-75% HR. Se evaluaron las pérdidas de peso, podredumbres, marchitamiento, desarrollo de alteraciones fisiológicas y la calidad visual. Con el sistema actual de comercialización bajo PP macroporoso y prerrefrigeración las lechugas presentaron mayor desarrollo de nervaduras o nervaduras rosáceas. PP estándar y biorientado fueron beneficiosos para reducirla, aunque presentaron riesgos muy leves de daños por CO₂. La prerrefrigeración redujo la podredumbre blanda bacteriana.

ABSTRACT. It was studied the effect of vacuum cooling on quality of lettuce heads packed under different films and stored for 14 days at 2°C and 90-95% RH and additional 2.5 days at 13°C and 70-75% RH simulating a retail sale period. Weight loss, decay, wilting, physiological disorders and visual quality were monitored. Individually packed head as actually shipped by using vacuum cooling and macroporous PP had serious risks of pink rib development. Standard and bioriented PP were favourable for reducing this disorder, although slight risks of disorders by CO₂ appeared. By using vacuum cooling the incidence of bacterial soft rot was reduced.

8.1. INTRODUCCIÓN

La lechuga Iceberg acogollada ciclo Astral (S&G) tradicionalmente ha sido una de las más cultivadas durante septiembre-octubre en el Campo de Cartagena en la Región de Murcia, si bien, en la actualidad, comparte su cultivo con otros ciclos idénticos pero resistentes al mildiu. Es un producto bastante perecedero, especialmente a temperaturas medias y altas de almacenamiento, con un reducido potencial de conservación frigorífica o vida útil (Hardenburg *et al.*, 1990). Por ello, se refrigera rápidamente desde el momento de recolección a la temperatura más baja posible por encima del punto de congelación.

Las condiciones óptimas de conservación de la lechuga acogollada son 0°C y 95% HR con una duración viable de hasta 21 días (Namesny, 1993), mientras que para las condiciones de transporte se aconsejan entre 0 y 6°C para duraciones de 1 a 3 días, y de 0 a 2°C para 4 a 6 días (Namesny, 1993). El máximo período necesario para que el producto alcance los países europeos de destino habitual desde España se estima en unos 7-8 días. No obstante, conviene estudiar la supervivencia comercial bajo condiciones más exigentes y prolongar este período hasta 14 días, lo que permitiría alcanzar mercados más lejanos.

Con la prerrefrigeración se frenan drásticamente los procesos catabólicos de los productos, lo que alarga el potencial de conservación, disminuyendo las pérdidas de peso y el marchitamiento y flexibilizando su comercialización (Lamúa *et al.*, 1984). El mejor sistema de prerrefrigeración para la lechuga es el de vacío que puede reducir la

temperatura en la recolección hasta 1-2°C en unos 30 minutos y evita o disminuye las podredumbres ocasionadas por *Sclerotinia* sp., *Stemphylium* sp. y *Bremia lactucae*. (ICMSF, 1996). La cantidad de agua evaporada en los vegetales prerrefrigerados bajo vacío se sitúa entre el 1 y 4% del peso fresco, dependiendo de la temperatura inicial del producto (Haas y Gur, 1987). Aunque esta deshidratación no suele constituir un problema al distribuirse homogéneamente por todo el producto, antes de prerrefrigerar pueden humedecerse las cabezas, mediante finas pulverizaciones de agua, para aumentar la velocidad de enfriado y evitar el marchitamiento. Comúnmente, en la Región de Murcia se prerrefrigera la lechuga una vez envasada en un polímero macroperforado, lo que evita el marchitamiento. La temperatura final no suele bajar de los 2-3°C.

El EAM de los productos hortofrutícolas en polímeros plásticos provistos de un cierre hermético obliga a la interacción entre la actividad respiratoria del producto y la permeación de los gases y permite crear condiciones favorables a su supervivencia (Artés, 2000). Su efecto más notable en la lechuga se traduce en la reducción de las pérdidas de peso, aunque entraña un lógico riesgo de aparición de podredumbres si se producen condensaciones de agua en el interior del plástico por fluctuaciones térmicas inadecuadas. Las condiciones de EAM recomendadas para la conservación de la lechuga Iceberg oscilan entre 1 y 5% de O₂ y 0 a 2,5% de CO₂ (Kader, 1990b; Gorris y Peppelenbos, 1992; Couture *et al.*, 1993). Sin embargo, a veces no es fácil generar estas atmósferas debido a que las permeabilidades al CO₂ (PCO_2) y al O₂ (PO_2) de los polímeros empleados en los envases comerciales, no permiten conseguir una selectividad (PCO_2/PO_2) adecuada para generar y estabilizar esa atmósfera muy empobrecida en O₂ con mínima acumulación de CO₂.

El objetivo del presente trabajo fue el estudio de diferentes envolturas individuales de PP y del efecto de la prerrefrigeración bajo vacío para optimizar la comercialización de lechuga Iceberg ciclo Astral.

8.2. MATERIAL Y MÉTODOS

8.2.1. Diseño experimental

La lechuga Iceberg ciclo Astral se cosechó en diciembre en el Campo de Cartagena (Murcia). Inmediatamente después de la recolección, se trasladó 10 km en cajas de campo a las instalaciones de Gregal Soc. Coop. (Torre Pacheco, Murcia) donde se procedió de forma aleatoria a realizar su manipulación. Las cabezas de lechugas, una vez limpias y acondicionadas, se dispusieron en cajas de cartón habituales para 8 unidades. Cada combinación de factores se compuso de 24 lechugas repartidas en tres réplicas de 8 (una caja comercial). Se confeccionaron únicamente las lechugas envasadas en el envase habitual de comercialización de PP macroperforado (PPP), mientras que el resto de las cajas se dejaron sin envasar.

La mitad de las cajas de lechuga se sometieron a prerrefrigeración bajo vacío durante 20 minutos hasta hacer descender la temperatura en el interior de los cogollos desde 18°C hasta 2-3°C. Inmediatamente después de finalizar el preenfriamiento bajo vacío, todas las lechugas se trasladaron en transporte refrigerado a 2°C al laboratorio (45

km) donde directamente se almacenaron en una cámara limpia a 2°C. Al día siguiente, en el interior de dicha cámara se efectuó el pesado y envasado del resto de las lechugas en los distintos plásticos y quedaron almacenadas durante 14 días a 2°C y 90-95% HR. Transcurrido este período la mitad de las lechugas de cada lote se sometió a los correspondientes análisis y el resto se trasladó a otra cámara a 13°C y 70-75% HR durante 2,5 días para simular unas condiciones razonables de venta al detalle en el supermercado.

8.2.2. Tratamientos y métodos de envasado

Las lechugas se envasaron en bolsas cuadradas de unos 28 cm y se adaptaron al tamaño de las cabezas de lechuga confeccionadas con los siguientes polímeros: PPP de 22 μm de espesor y 32 perforaciones de 1-2 mm de diámetro por dm^2 ; PP estándar de 25 μm (PPS25); PP estándar de 40 μm (PPS40); PP biorientado de 25 μm (PPB25); y PP biorientado de 40 μm (PPB40).

Excepto el PPP, todos los envases fueron no perforados y las bolsas se termosellaron para que el intercambio gaseoso con la atmósfera sólo fuera posible por difusión a través del polímero.

8.2.3. Permeabilidad de los polímeros plásticos

Los valores de permeabilidad al O_2 y CO_2 del PPS a 2°C fueron 10,7 y 22,9 $\text{amol}\cdot\text{mm}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$ respectivamente, mientras que a 12°C fueron 13,9 y 40,9 (Artés *et al.*, 1998b). La permeabilidad al vapor de agua del PPS de 20 μm a 38°C y 90% HR fue de 8,5 $\text{g}/(\text{m}^2\cdot\text{día})$, suministrada por Plásticos del Segura S.L. El PPB presentó una permeabilidad a 5°C de 12 y 44 $\text{mL}\cdot\text{mm}/(\text{m}^2\cdot\text{día}\cdot\text{atm})$ al O_2 y CO_2 respectivamente, mientras que a 15°C fue de 21 y 70 (Martínez y Artés, datos no publicados). De estos valores se deduce que el PPS era unas 4 veces más permeable a los gases que el PPB.

8.2.4. Análisis de la composición gaseosa

Para cuantificar el O_2 , CO_2 y C_2H_4 presente en el espacio de cabeza de los envases, diariamente se tomaron muestras de 0,5 mL que se analizaron en un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Autosystem, Norwalk, Connecticut, EE.UU. dotado de detectores de conductividad térmica y de ionización de llama.

8.2.5. Sistemas de medida de calidad

Al comienzo de la experiencia se caracterizaron 6 cabezas de lechuga midiendo el peso de los cogollos (g) utilizando una balanza digital modelo Mettler PC-4400 con 0,5 g de precisión. Sobre estos mismos cogollos de lechuga se midieron los diámetros ecuatorial y longitudinal (cm), por proyección ortogonal sobre un plano milimetrado, y la compacidad por penetrometría (kg) con un penetrómetro manual Fruit Pressure Tester T.R. Scientific Instruments (Italia). Al finalizar los períodos de conservación y comercialización se midió nuevamente la compacidad sobre otros 6 cogollos tomados

de forma aleatoria. Para evaluar la incidencia y severidad de las alteraciones se utilizó el índice de alteraciones (IA) adaptado a lechuga por Martínez y Artés (1999):

$$IA = [(1 \bullet Nn) + (2 \bullet Nvs) + (3 \bullet Ns) + (4 \bullet Nm) + (5 \bullet Nse)] \bullet Nt^{-1} \quad (8-1)$$

donde, Nn , Nvs , Ns , Nm , y Nse son el número de cabezas afectadas y su grado de severidad según las categorías: ninguno, muy ligero, moderado, y severo respectivamente. Los valores de este IA varían desde 1 (ninguno) hasta 5 (severo). Los valores 4 y 5 en las cabezas implican que se consideran inaceptables para comercializar.

La calidad general y el marchitamiento y se evaluaron utilizando una escala de 9 puntos donde 9 - excelente, 7 - bueno, 5 - aceptable, límite para su comercialización, 3 - malo y 1 - extremadamente malo (Artés y Martínez, 1996).

8.2.6. Análisis estadístico

El diseño de la experiencia fue completamente aleatorio, de tipo factorial compuesto por 5 tratamientos de envasado x 2 de enfriado x 2 de almacenamiento. Cada tratamiento se compuso de 3 réplicas, cada una de las cuales estuvo constituida por una caja de 8 cabezas de lechuga o submuestras.

Se realizó un análisis de la varianza y, cuando existieron diferencias, se utilizó el test de mínima diferencia significativa (LSD) para separar medias.

8.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.3.1. Caracterización de las cabezas de lechuga

El peso medio de las cabezas de lechuga fue de 617 g, mientras que la firmeza fue de $4,0 \pm 0,5$ kg (promedio \pm desviación estándar, $n=6$). Estos datos se vieron reflejados en el grado de compacidad de las hojas que fue de tipo medio (dejando huecos de aire entre las hojas) y, por tanto, en un momento óptimo para su cosecha. El calibre longitudinal de los cogollos fue 12 cm. y los calibres transversales mínimo y máximo fueron respectivamente 13 y 14 cm., lo que indica la forma casi esférica de las cabezas comerciales de esta variedad. Al final del período de conservación de 14 días a 2°C, la firmeza presentó un valor de $4,2 \pm 0,6$ kg. Después de 2,5 días a 13°C el valor se situó en $4,6 \pm 0,7$ kg. Estos resultados, sin significación respecto a los iniciales, pusieron de manifiesto que el componente principal de la firmeza del cogollo entero de lechuga se debió a su compacidad más que al grado de hidratación de las hojas.

8.3.2. Modificación de la atmósfera

La concentración de etileno fue en todos los casos inferior a 0,1 ppm (límite de detección calculado del cromatógrafo). La lechuga Iceberg presenta una tasa muy baja de emisión de etileno incluso a 20°C ($<0,1 \mu\text{L}/(\text{kg} \bullet \text{h})$) (Kim and Wills, 1995; Leja and Mareczek, 1995). Adicionalmente, este gas se pierde por permeabilidad a través del

polímero (Wang *et al.*, 1998) y el CO₂ acumulado puede inhibir la síntesis de etileno (De Wild, *et al.*, 1999), consiguientemente, no es de esperar ninguna acumulación detectable de etileno dentro del envase. La composición de la atmósfera en el espacio de cabeza estuvo comprendida entre 9 y 12% de O₂ y 3 a 10% de CO₂ (Figs. 8-1 y 8-2). Durante la comercialización, al aumentar la temperatura, se rompió el equilibrio gaseoso generado por el aumento de la concentración de CO₂ y la disminución de la de O₂.

No se apreciaron diferencias en la consecución de atmósferas de equilibrio entre las lechugas prerrefrigeradas y no, probablemente debido a la rapidez del enfriamiento y al mantenimiento de la cadena de frío en todas las lechugas. En cambio, se constató una ligera diferencia en la atmósfera (de 1 a 2%) entre los envases de 25 µm de espesor y los análogos de 40 µm. También se generó una atmósfera diferente bajo PPB y PPS, con una modificación mayor en los envases de PPB. Ello es debido a que el PPB fue menos permeable al O₂ y al CO₂ que el PPS, confirmando nuestros valores de permeabilidad (Martínez y Artés, datos no publicados).

8.3.3. Pérdidas de peso, marchitamiento y calidad general

Al término de la comercialización las mayores pérdidas de peso sucedieron en las lechugas bajo PPP (Tabla 8-1) aunque con un valor aceptable (2,15%) para no presentar marchitamiento. En efecto, Ryall y Lipton (1979), indicaron que el marchitamiento se hace patente en la lechuga cuando las pérdidas de peso superan el 5% del peso inicial, aunque en trabajos previos en lechuga Iceberg se observaron síntomas moderados a severos de marchitamiento cuando las pérdidas de peso sobrepasaron el 4,75% (Artés y Martínez, 1996; Martínez y Artés, 1999).

El preenfriamiento bajo vacío no tuvo efecto significativo sobre las pérdidas de peso (Tabla 8-1), probablemente debido a la rapidez de enfriamiento en cámara de las lechugas no prerrefrigeradas y al mantenimiento de la cadena de frío, confirmando resultados previos (Artés y Martínez, 1994).

Entre los tratamientos de envasado con PP no perforados, fueron significativas las interacciones entre la duración del almacenamiento y el tipo de envase, tanto en pérdidas de peso, como en marchitamiento y calidad general (Tabla 8-2). El envase que mejor preservó la calidad visual externa de las lechugas fue el PPB40, por sus características de permeabilidad que permitieron mantener condiciones atmosféricas favorables para este parámetro, incluido el vapor de agua. Sin embargo, la calidad visual externa puede llevar a confusión en la lechuga, puesto que aunque presente un buen aspecto, el interior del cogollo puede presentar alteraciones fisiológicas como la mancha parda (“*brown stain*”) y el pardeamiento de las hojas internas (“*heart leaf injury*”), de acuerdo con Lipton *et al.* (1972).

Tabla 8-1. Valores promedio y significación de las pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual en la lechuga Astral envasada en polipropileno macroperforado.

Nivel		Pérdidas de peso	Marchitamiento	Calidad visual
Almacenamiento				
14 días a 2°C		1,07 ^z	3,05 ^y	6,30 ^x
14 días a 2°C + 2,5 días a 13°C		2,15	3,89	6,58
Error estándar		0,097	0,074	0,096
LSD ($P \leq 0,05$)		0,447	0,344	0,441
Preenfriamiento				
Sí		1,61	3,40	6,52
No		1,61	3,53	6,37
Error estándar		0,097	0,074	0,096
LSD ($P \leq 0,05$)		0,447	0,344	0,441
Preenfriamiento	Almacenamiento (días)			
Si	14	1,01	3,00	6,23
	16,5	2,20	3,80	6,80
No	14	1,13	3,10	6,37
	16,5	2,10	3,97	6,37
Error estándar		0,137	0,105	0,135
LSD ($P \leq 0,05$)		0,632	0,486	0,624

^z % pérdida de peso respecto peso fresco inicial

^y escala de valoración: 1-ninguno; 3-suave; 5-moderado (límite de aceptabilidad); 7-severo; 9-extremo

^x escala de valoración: 9-excelente; 7-bueno; 5-moderado (límite de aceptabilidad); 3-pobre; 1-extremadamente pobre

Tabla 8-2. Análisis de la varianza (% de la suma total de cuadrados y probabilidad ^z) de las pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual de la lechuga Astral envasada en plásticos no macroperforados.

Fuente de variación	GL	Pérdidas de peso (%)	Marchitamiento	Calidad visual
Efectos principales				
A: Tipo de almacenamiento	1	66,70 ***	1,08	23,42 ***
B: Envase plástico	3	8,65 **	2,29	9,77 **
C: Preenfriamiento	1	0	0,12	2,08
Interacciones				
A x B	3	3,14 **	23,37 ***	16,92 **
A x C	1	0	3,01	16,22
B x C	3	8,47 **	17,59 **	2,50
A x B x C	3	2,02	7,47	10,46 **
Residuo	32	11,02	45,06	33,22

^z n.s. no significativo. *** $P \leq 0,001$; ** $P \leq 0,05$

8.3.4. Incidencia y severidad de alteraciones

Las alteraciones de origen fisiológico que aparecieron en las lechugas durante su conservación y comercialización fueron nervaduras rosáceas, mancha parda y pardeamiento de las hojas internas (Tabla 8-3). Además se produjeron podredumbres blandas bacterianas generalmente debidas a *Erwinia carotovora*, confirmando anteriores observaciones (Lipton *et al.*, 1972).

Tabla 8-3. Análisis de la varianza (en porcentaje de la suma total de cuadrados y probabilidad^z) de la incidencia y severidad de alteraciones después de 14 días a 2 °C o 14 días a 2 °C más 2,5 días a 13 °C.

Fuente de variación	GL ^y	Nervaduras rosáceas	Mancha parda	Pardeamiento hojas internas	Podredumbre blanda bacteriana
Efectos principales					
A: Período de conservación	1	0,24 n.s.	1,57 n.s.	0,61 n.s.	10,40 * * *
B: Tipo de envasado	4	17,90 *	22,6 * * *	23,71 * * *	46,64 * * *
C: Preenfriamiento	1	19,6 * * *	17,6 * * *	28,45 * * *	3,69 *
Interacciones					
A x B	4	8,0 n.s.	8,03 *	7,28 *	4,61 n.s.
A x C	1	1,09 n.s.	2,45 n.s.	0,20 n.s.	0,18 n.s.
B x C	4	11,1 * *	9,40 *	16,7 * * *	5,45 n.s.
A x B x C	4	5,6 n.s.	6,7 n.s.	1,94 n.s.	2,35 n.s.
Residuo	40	36,6	31,6	21,02	

^z n.s. no significativo. * * * $P \leq 0,0001$; * * $P \leq 0,001$; * $P \leq 0,05$

^y grados de libertad

Tabla 8-4. Incidencia de nervaduras rosáceas, mancha parda y pardeamiento de las hojas internas en lechuga Astral conservada en diferentes tipos de envases sometida o no a preenfriamiento.

Nervaduras rosáceas					
Preenfriamiento	PPP	PPS25	PPS40	PPB25	PPB40
Si	3,02 ^z	1,81	1,67	1,81	1,87
No	1,54	1,37	1,33	1,27	1,67
EEM ^y = 0,205		LSD ($P \leq 0,05$) = 0,58			
Mancha parda					
Preenfriamiento	PPP	PPS25	PPS40	PPB25	PPB40
Si	1,00 ^z	1,21	1,89	1,60	1,50
No	1,00	1,02	1,23	1,00	1,23
EEM ^y = 0,116		LSD ($P \leq 0,05$) = 0,35			
Pardeamiento de las hojas internas					
Preenfriamiento	PPP	PPS25	PPS40	PPB25	PPB40
Si	1,00 ^z	1,42	2,56	1,87	2,29
No	1,00	1,25	1,10	1,27	1,23
EEM ^y = 0,147		LSD ($P \leq 0,05$) = 0,45			

^z Los valores representan el índice de la alteración. Escala: 1-ninguno; 2-muy leve; 3-moderado; 4-severo; 5-extremo

^y error estándar de la media

Respecto a la incidencia e intensidad de las nervaduras rosáceas, destaca que la interacción tipo de envasado x preenfriamiento fue significativa a $P \leq 0,001$ (Tabla 8-3). Los IA de nervaduras rosáceas no fueron muy elevados, excepto en las lechugas envasadas en PPP y prerrefrigeradas, en que se evaluó moderado (3,02) y, por tanto, las cabezas no eran comercializables, aunque la evaluación estuvo en el límite (Tabla 8-4).

De la Tabla 8-3 del análisis de la varianza también se pone de manifiesto que los efectos principales preenfriamiento y tratamiento también fueron significativos. El efecto general del preenfriamiento fue un estímulo de la severidad de nervaduras rosáceas. Este inesperado resultado muestra un cierto efecto perjudicial del preenfriamiento o, en todo caso, que no mostró efecto inhibitor, cuando por el contrario, todos los tratamientos con envases no perforados dificultaron el desarrollo de la alteración.

Al igual que para las nervaduras rosáceas, la mancha parda ha tenido un desarrollo potenciado por la interacción entre el preenfriamiento y el tipo de envase (Tablas 8-3 y 8-4). Las lechugas envasadas en PPP estuvieron exentas de la alteración, dada la etiología de incidencia de mancha parda con acumulación de CO₂ superior a 2-3% (Stewart y Matoba, 1972), y bajo PPP no se produjo un aumento significativo de este gas.

Por otro lado, en las lechugas envasadas con plásticos no perforados el preenfriamiento estimuló el desarrollo de esta alteración (Tabla 8-4), a pesar de que no influyó significativamente en la modificación de la atmósfera (Figs. 8-1 y 8-2). Los mayores IA se obtuvieron en las lechugas envasadas en los polímeros de 40 µm de espesor y en PPB25 (los menos permeables), efecto que fue potenciado por el preenfriamiento, aunque en todo caso la severidad fue muy leve (no alcanzó el valor 1,9) (Tabla 8-4).

Siguiendo la tónica general de IA, para el pardeamiento de las hojas internas también se obtuvieron efectos similares al resto de alteraciones (Tablas 8-3 y 8-4). Por la misma razón que sucedió con la incidencia de mancha parda, las lechugas envasadas en PPP no sufrieron la alteración. Fue significativo que en los PP no perforados, más impermeables, el IA alcanzó niveles de hasta 2,56, aunque las lechugas fueron siempre comercializables (Tabla 8-4). Ello significa un mayor riesgo de pardeamientos con el uso de estos polímeros.

Aunque el contenido de CO₂ llegó hasta el 10%, no causó daños muy patentes probablemente debido a la corta duración del almacenamiento, confirmando lo observado por Stewart y Matoba (1972). El mayor daño ocurrido por acumulación de CO₂ en las lechugas prerrefrigeradas puede estar relacionado con una mayor solubilidad de este gas en los tejidos a bajas temperaturas, de acuerdo con Siriphanich y Kader (1986).

La incidencia de podredumbre blanda bacteriana se relacionó con los tres efectos principales independientemente, no siendo ninguna interacción significativa (Tabla 8-3). Las conclusiones del análisis de los valores de los efectos principales (Tabla 8-5) denotan que el preenfriamiento presentó una acción positiva para inhibir las podredumbres bacterianas, principalmente durante el período de comercialización. Además, las lechugas envasadas en PPP fueron más sensibles a las podredumbres que

las envasadas en plásticos no perforados, por lo que la modificación de la atmósfera mostró un efecto inhibitor de la proliferación de los microorganismos sobre los tejidos, especialmente a valores del orden de 10% CO₂, confirmando observaciones previas en otros productos (Kader *et al.*, 1989).

Tabla 8-5. Efectos principales de las medias correspondientes a la podredumbre blanda bacteriana (PBB) en lechuga Astral siendo las interacciones no significativas.

Medias efectos principales					
Tipo envase	PBB	Tipo almacenamiento	PBB	Preenfriamiento	PBB
PPP	1,92 ^z	14 días a 2°C	1,17	Si	1,23
PPS25	1,26	14 d. 2°C + 2,5 d. 13°C	1,46	No	1,40
PPS40	1,19				
PPB25	1,14				
PPB40	1,08				
EEM ^y	0,081	EEM	0,051	EEM	0,051

^z los valores representan el índice de la alteración. Escala: 1-ninguno; 2-muy leve; 3-moderado; 4-severo; 5-extremo

^y error estándar de la media

8.4. CONCLUSIONES

La lechuga Iceberg ciclo Astral envasada en condiciones comerciales en PPP y prerrefrigerada bajo vacío se ha mostrado bastante sensible a la alteración por nervaduras rosáceas. Este desorden puede evitarse con el empleo de polímeros no perforados, como PPB y PPS, mediante la técnica EAM, aunque deben controlarse los riesgos de aparición de daños por CO₂. Como estos daños se relacionan con la temperatura y tiempo de almacenamiento, es de prever que durante períodos de conservación y distribución relativamente cortos (inferiores a 10 días), los daños por CO₂ serán nulos o de una severidad mínima. Ha resultado preferible el PPS de 25 µm de espesor por el menor riesgo de alteraciones.

Los efectos beneficiosos de la prerrefrigeración bajo vacío se han visto especialmente reflejados en la reducción de las podredumbres bacterianas.

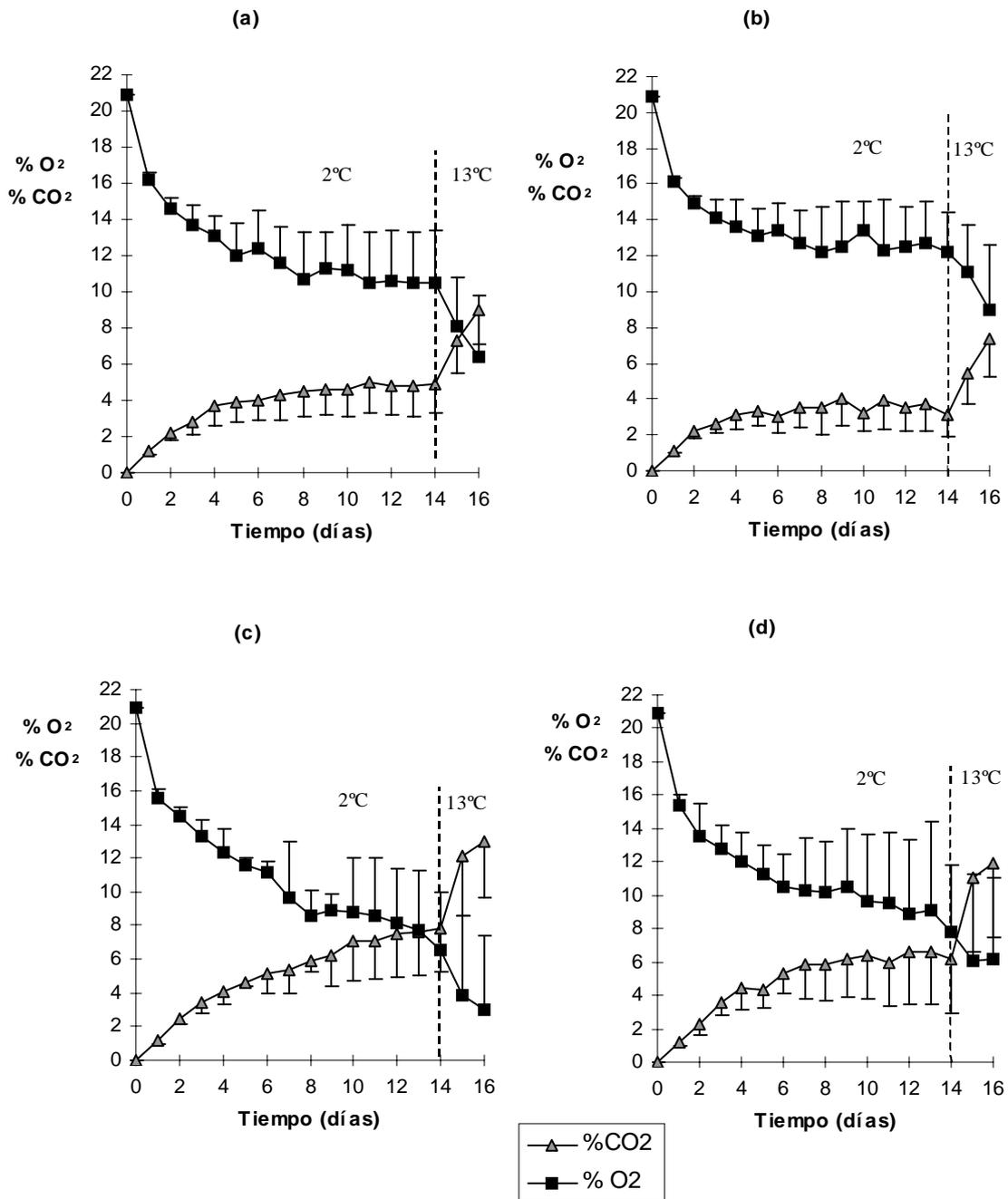


Fig. 8-1. Valor medio y desviación estándar (5 réplicas) de la evolución de la atmósfera en el interior de los envases de polipropileno estándar (PPS) y biorientado (PPB) ambos de 25 μ m de espesor: PPS CV (a), PPS CV (b), PPB CV (c), PPB SV (d). CV (lechugas preenfriadas), SV (lechugas no preenfriadas).

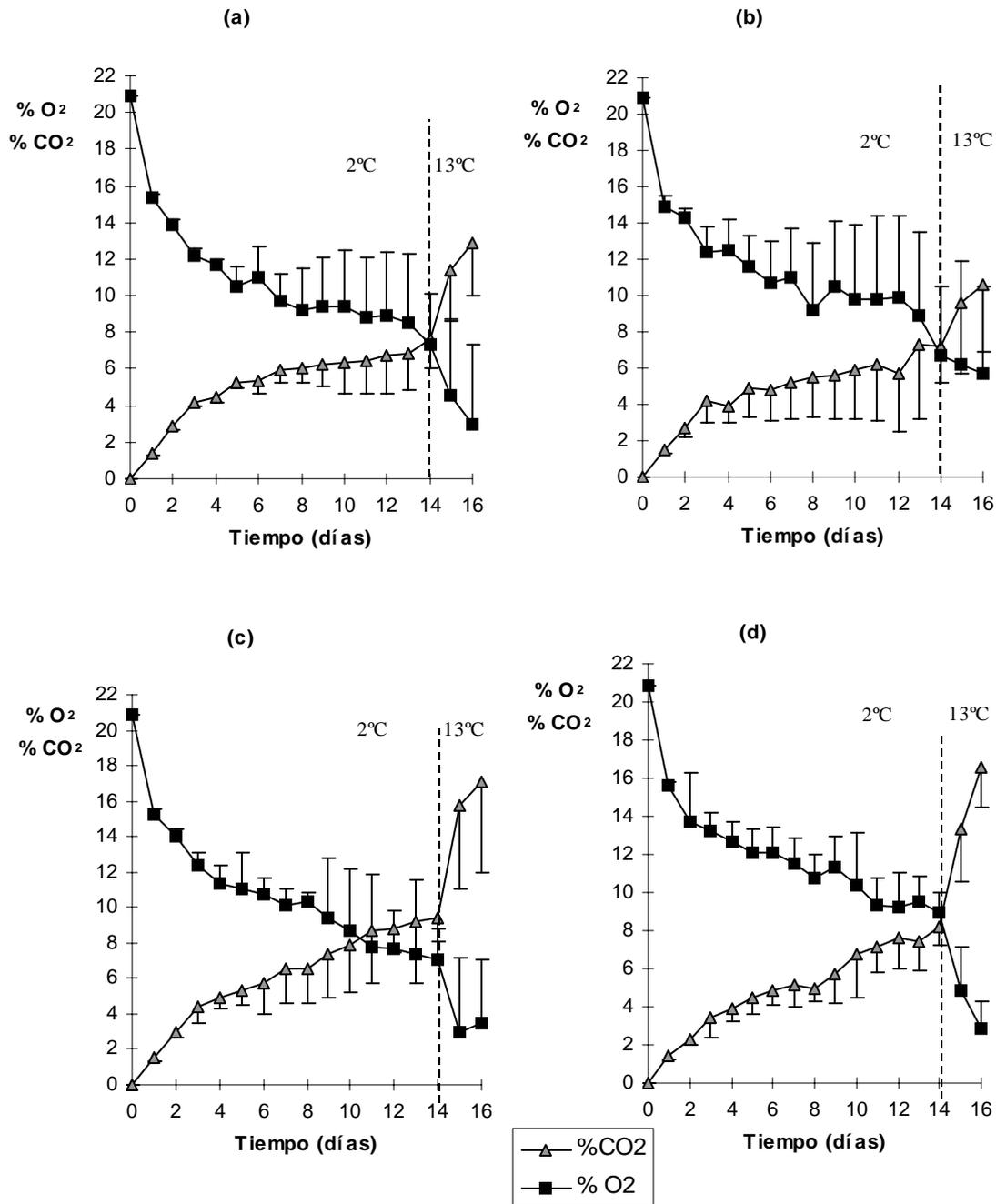


Fig. 8-2. Valor medio y desviación estándar (5 réplicas) de la evolución de la atmósfera en el interior de los envases de polipropileno estándar (PPS) y biorientado (PPB) ambos de 40 μ m de espesor: PPS CV (a), PPS CV (b), PPB CV (c), PPB SV (d). CV (lechugas preenfriadas), SV (lechugas no preenfriadas).

El presente trabajo fue publicado con la siguiente referencia:

Autores (p.o. de firma): **Martínez, J.A., Artés, F.**

Título: Mejora de la conservación de la lechuga acogollada mediante envases de polipropileno no perforado.

Ref. Revista: Agrochimica.

Área JCR (Science Edition): Índice de Impacto: 0.193 Tercio en el que está incluida: 3°
Chemistry, Applied.

Clave: A Volumen: 49 (1-2) Páginas, inicial: 29 Final: 41 Fecha: 2005

9. CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

9.1. Permeabilidad de los polímeros plásticos

En relación a la permeabilidad de los polímeros plásticos para el EAM de la lechuga Iceberg y el efecto de la temperatura sobre ella, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Los valores de permeabilidad de los polímeros polipropileno estándar (SPP), polipropileno CAST (CPP), polipropileno biorientado (BOPP), cloruro de polivinilo (PVC) y polietileno de baja densidad (LDPE) han presentado generalmente una elevada dispersión que no se ha podido achacar al tamaño de la muestra. Del estudio realizado se concluyó que la dispersión fue debida a una alta variabilidad intrínseca del material, que fue mínima en BOPP y máxima en LDPE, en detrimento de la reproducibilidad de la medida.
2. Dicho en otras palabras, la variabilidad de los valores de permeabilidad observados dentro de un mismo tipo de polímero dependieron, fundamentalmente, del número de series o tandas estudiadas, es decir, de la bobina o del momento de fabricación. Ésta fue la principal causa de la variabilidad observada en la población de plásticos expuesta en la primera conclusión. La elevada variabilidad repercute negativamente en la caracterización del material y la reproducibilidad del experimento.
3. La variabilidad observada dependió también del gas que permea. En PVC, LDPE y BOPP, la DER de la medida del O₂ fue mayor generalmente que en la medida de CO₂ (en el 74% de los casos). En CPP fue al contrario, mientras que en SPP no pareció haber diferencias. Esta menor dispersión en la medida del CO₂ pudo ser debida a dos hechos fundamentales: por un lado, al menor error obtenido en la determinación de este gas por cromatografía gaseosa, ya que en el cromatógrafo de gases no se pudo separar el Ar del O₂, por lo que este solapamiento pudo contribuir a un ligero mayor error en la determinación de este último gas y, por otro lado, a que los porcentajes de CO₂ suelen presentar valores bastante más bajos que los de O₂ dentro de la célula de permeación. De este modo, como la medida de la permeación presentó una DER más o menos constante, esto implica que el error aumentó con el valor numérico de la medida. Si bien, este hecho no estuvo claro, cuando se consideraron varias series de datos, hecho que aumentó sensiblemente la dispersión de los valores.
4. Se han diferenciado tres grupos o poblaciones estadísticas de envases plásticos de acuerdo con sus características de permeabilidad. Un grupo formado únicamente por el BOPP de baja permeabilidad en relación con los otros dos. Otro grupo formado por SPP y CPP, de permeabilidad intermedia y, por último, el formado por LDPE y PVC, de mayor permeabilidad.
5. La alta variabilidad de la permeabilidad observada en LDPE y, en menor grado en PVC, se traduce en que ambos polímeros son difíciles de caracterizar y, por tanto, pone en duda su adecuación a un modelo eficaz de

diseño de envase, máxime cuando son polímeros extensibles, que pueden modificar significativamente la permeabilidad de una probeta a otra del mismo plástico, dependiendo del grado de extensibilidad alcanzado en el momento de cerrar el envase.

6. La temperatura influyó decisivamente en la permeabilidad de los polímeros plásticos al O₂ y al CO₂. Esto indica que la temperatura es un factor altamente dependiente, por lo que se podría estimar la permeabilidad de un polímero en función de la temperatura del ambiente de confinamiento, mediante una ecuación de Arrhenius, y valorar la influencia que pudieran tener otros factores ambientales o intrínsecos al material plástico. Esta sería la primera herramienta básica y eficiente en el diseño de envases para la lechuga.
7. El ratio de permeabilidad o selectividad (PCO_2/PO_2) ha sido muy similar en los cinco polímeros, aunque en PVC fue ligeramente mayor. Esto se traduce en una mayor diferencia entre la permeabilidad al CO₂ y al O₂ en este último polímero.
8. El ratio de permeabilidad no se ha visto influenciado por la temperatura. Se deduce que las variaciones de la permeabilidad en respuesta de la temperatura guardan la misma proporción, tanto para la permeabilidad al CO₂ como al O₂.
9. La dispersión en los valores de permeabilidad dentro de un mismo polímero constituye un problema importante a la hora de establecer diseños de envase seguros a partir de los polímeros estudiados. Una de las soluciones posibles para resolver este problema podría abordarse revisando los procesos de fabricación de los materiales para conseguir láminas más homogéneas.

9.2. Actividad respiratoria y emisión de etileno

En relación con la influencia de la temperatura en la AR y emisión de etileno de cogollos enteros de lechuga y mínimamente procesada y su influencia sobre las necesidades de permeabilidad de los envases utilizados en EAM, se concluye que:

1. En el presente estudio se ha corroborado que la temperatura es el factor ambiental más importante que contribuye a la supervivencia comercial de la lechuga Iceberg por sus efectos decisivos sobre la velocidad de los procesos fisiológicos, incluida la respiración. Sin embargo, dada la elevada variabilidad obtenida en los datos de la AR dentro de la misma temperatura, esta estimación carece del nivel mínimo de exactitud necesario para el establecimiento de un modelo adecuado de EAM. En otras palabras, obtener un valor de respiración fiable a partir de la temperatura de almacenamiento es muy arriesgado. La variedad o ciclo de lechuga, la edad fisiológica, las condiciones culturales, diferentes campañas, etc., parecen factores altamente influyentes en la AR, por lo que estos factores deberían ser considerados en un modelo de envase.

2. Durante el almacenamiento a 6°C de los cogollos enteros de lechuga, no se produjo una variación significativa de la tasa respiratoria a lo largo de 15 días, período en que el producto llegó a mostrar claros síntomas de senescencia. Este proceso definió a la lechuga Iceberg, de acuerdo con la bibliografía, como un producto tipo no climatérico.
3. El valor de Q_{10} entre 5 y 15°C, obtenido para la lechuga del presente trabajo, ha sido 3,3, es decir, ligeramente superior al reportado por la mayoría de autores en la bibliografía. Esta diferencia se traduce en un mayor efecto de la temperatura sobre el proceso respiratorio de la lechuga Iceberg recolectada en el Campo de Cartagena. Esto no es lo más adecuado al conservar la lechuga en sistemas EAM con variación de la temperatura durante la comercialización, puesto que un aumento habitual de la temperatura entre final del transporte y estancia en el expositor del supermercado, desemboca en un incremento de la AR que, promueve al mismo tiempo, la acumulación de CO_2 en el interior del envase a niveles tóxicos para la lechuga, siempre que la permeabilidad del envase a este gas no sea la adecuada.
4. La interpretación de la mayor similitud de los valores de AR obtenidos a bajas temperaturas en este estudio respecto a los de la bibliografía, debe encontrarse en que el proceso respiratorio se encuentra ralentizado por el efecto de la temperatura, por tanto, las diferencias se minimizan. Matemáticamente, la significación se encuentra en el concepto de que al aumentar la temperatura aumenta concomitantemente el error experimental de la medida; en otras palabras, el coeficiente de variación o permanece constante o aumenta. No obstante, este hecho no ha sido evidente, quizás debido a la interferencia con el número de series de datos considerado y la propia variabilidad del material vegetal. También hay que tener en consideración que a 20°C sólo se utilizó una serie de datos (disminución del error). Quizás esta variabilidad en los valores de la DER con la temperatura se debe, fundamentalmente, a la influencia de una elevada serie de datos obtenidos de campañas diferentes, con la segura variabilidad de la AR entre distintas lechugas, cultivos, épocas del año y campañas.
5. El procesado produjo un súbito incremento de la tasa respiratoria, que tendió a remitir significativamente durante la conservación a 5°C, especialmente en la lechuga más finamente procesada.
6. Sobre la base de su AR se ha clasificado la lechuga Iceberg ciclo Coolguard procesada en fresco, en dos categorías diferenciadas: la finamente procesada (tamaño de corte $\leq 0,5$ cm) y la de tamaños comprendidos entre 0,5 y 2 cm. Se ha comprobado que un número de cortes en el procesado comprendido entre 10 y 40 por cogollo (tamaño de corte mayor), no produjo diferencias significativas en la respuesta respiratoria. Sin embargo, a partir de 50 cortes por cogollo (menor tamaño de piezas), aumentó significativamente la tasa respiratoria del producto procesado. Como la mayor demanda de O_2 se produjo en la lechuga más finamente procesada, ésta exigirá envases de polímeros dotados de mayor permeabilidad y, en su caso, el empleo de temperaturas más bajas, para evitar una excesiva acumulación de CO_2 y el riesgo de anaerobiosis en el interior de los envases por el aumento de la AR.

7. El PP y, especialmente, el LDPE, se han considerado idóneos para el envasado y la conservación de la lechuga Iceberg ciclo Coolguard procesada en tamaño de corte $\leq 0,5$ cm por sus características de permeabilidad.
8. La lechuga Iceberg no emitió prácticamente etileno a la temperatura de 5°C. Las trazas de esta hormona observadas en algunos cogollos pueden obedecer a un estrés ocasionado por microheridas imperceptibles durante la manipulación.
9. El método dinámico de la medida de la AR aplicado a la lechuga Iceberg entera y mínimamente procesada ha arrojado unos valores más o menos acordes con los reportados en la bibliografía, especialmente a temperaturas de refrigeración, e incluso hasta los 20°C. Al mismo tiempo, se ha caracterizado la AR de la lechuga, necesaria para modelar la supervivencia comercial del producto almacenado en aire o en AM y permitir el diseño adecuado de envases plásticos semipermeables aplicados a su conservación. No obstante, dada la variabilidad observada, sería recomendable incluir en un modelo del envase otras variables como las planteadas en las conclusiones de permeabilidad de los polímeros plásticos.

9.3. Diseño del envase

1. De acuerdo con la ecuación general de intercambio gaseoso a través de un polímero plástico utilizado en un sistema EAM, y sustituyendo en ésta los valores óptimos de O₂ y CO₂ extraídos de la mayor parte de la bibliografía para la conservación de la lechuga entera (3% O₂ + 0-2% CO₂ + resto N₂) y procesada (0,5-3% O₂ + 10-15% CO₂ + resto N₂), los valores de selectividad fueron inferiores a 3 para los requerimientos de la lechuga procesada y mayores de 9,1 para los de la lechuga entera. Por ello es inviable, por medio de polímeros plásticos de envasado y con modificación pasiva de la atmósfera, obtener la AM adecuada en la conservación de cogollos enteros de lechuga Iceberg. Además esta atmósfera es potencialmente peligrosa si no se mantiene escrupulosamente la cadena de frío, puesto que el producto podría fermentar. Sin embargo, es posible obtener atmósferas favorables para la conservación de la lechuga mínimamente procesada con el concurso de los cinco polímeros sometidos a estudio (selectividades inferiores al valor de 3), tras un preciso diseño de envase.
2. Experimentalmente hemos constatado en la conservación de la lechuga en AM, que unas atmósferas relativamente reducidas en O₂ y bajas en CO₂ son beneficiosas para conservarla a 2°C durante 14 días, por lo que con el concurso de polímeros plásticos habitualmente utilizados como envases se pueden obtener este tipo de atmósferas favorables, concretamente las del orden de 9 a 15% O₂ y 2% CO₂. Estos plásticos han sido CPP, SPP, BOPP, PVC y LDPE, ya que sus ratios de permeabilidad (selectividad) han sido menores o ligeramente superiores a 3, es decir, valores necesarios para tras un diseño correcto del envase, se pueda alcanzar este tipo de atmósfera. Estos polímeros son muy permeables al CO₂ y, al mismo tiempo, relativamente

permeables al O₂. Concretamente, con la mayoría de estos polímeros plásticos se puede obtener una atmósfera del 2% CO₂ y simultáneamente entre 12 y 13% O₂, exceptuando el PVC cuyo contenido en O₂ será menor del 9%.

3. De un estudio más profundo del diseño del envase a partir de los resultados obtenidos tras la aplicación de la ecuación general de intercambio de gases en un sistema EAM, se ha deducido que las permeabilidades (permeanzas) de los envases requeridas para generar una atmósfera favorable para la conservación de la lechuga entera en las condiciones experimentadas rondan las siguientes (datos de permeabilidad para el almacenamiento a 5°C): PO_2 : debe oscilar entre unos 6.000 y 8.000 mL O₂/(m²•día•atm) y PCO_2 : aproximadamente entre 1.000 y 2.500 mL CO₂/(m²•día•atm).
4. Como conclusión global a los apartados de permeabilidad y actividad respiratoria, se concluye que la ecuación general de intercambio de gases en un sistema EAM, no puede definir por sí sola el diseño de envase para la lechuga Iceberg, ya que la variabilidad en valores de permeabilidad del envase y la actividad respiratoria de la lechuga es muy elevada. Para aumentar la precisión de estos valores, sería necesario por un lado, obtener una mayor homogeneización en la fabricación de las láminas plásticas del mismo tipo y, por otro, establecer grupos de actividad respiratoria atendiendo no sólo a la temperatura de almacenamiento, sino también a la edad fisiológica de la lechuga y a otros factores que pudieran ser altamente influyentes en este parámetro.

9.4. Lechuga Iceberg ciclo Salinas

1. Se puso de manifiesto el aumento de las pérdidas de peso durante el período de comercialización de las lechugas almacenadas en PP macroperforado. Este ascenso, a veces, fue más evidente en las lechugas no preenfriadas dentro del mismo tipo de polímero. El aumento de las pérdidas de peso se reflejó en el marchitamiento, que subió durante la comercialización y fue mayor también en las lechugas no preenfriadas.
2. La calidad visual de las lechugas envasadas en PP macroperforado siguió la misma tendencia que las pérdidas de peso y el marchitamiento. De este modo, las lechugas preenfriadas mostraron una ligera superioridad en calidad visual que las no preenfriadas.
3. En las lechugas envasadas en PP no perforados se produjo un aumento de las pérdidas de peso durante la comercialización de 2,5 días a 12°C y un descenso concomitante de la calidad visual de carácter muy leve. En ningún caso las lechugas dejaron de ser comercializables.
4. El período de comercialización fue decisivo en el aumento de la alteración fisiológica venas rosáceas, especialmente en las lechugas preenfriadas y comercializadas en PP macroperforado.

5. En los envases no perforados, sólo se apreció venas rosáceas en las lechugas preenfriadas, excepto en las de envasado activo en PP de 50µm, pero, en este caso, la incidencia de esta alteración fue insignificante y de carácter suave. Dicho en otras palabras y atendiendo al efecto de la atmósfera generada en los polímeros no perforados como principal causa de inhibición de las venas rosáceas, la reducción del O₂ desde el inicio del envasado inhibió su desarrollo y la redujo significativamente con el empleo de PP no perforados.
6. La mayor incidencia de mancha canela tuvo lugar en las lechugas envasadas en PP macroperforado.
7. La mancha canela se redujo significativamente con el concurso de los polímeros no perforados, pero esta reducción fue más patente en el envasado activo en PP de 50µm de espesor y con una atmósfera inicial de de aproximadamente 2% O₂ y sin CO₂, mejor resultado que con una concentración inicial de O₂ de aproximadamente 6% y 1,5% de CO₂. Este resultado permitió poner la importancia de estos dos gases en la reducción de mancha canela. Generalmente el envasado en atmósfera pasiva de las lechugas en PP no perforado no ha sido suficiente para inhibirla.
8. El preenfriamiento ha tenido un efecto ligeramente favorable para reducir la mancha canela.
9. La mancha parda tuvo una incidencia asociada a la modificación de los niveles de los gases metabólicos con el empleo de los polímeros no perforados, pero únicamente apareció tras el período de comercialización de 2,5 días a 12°C, presumiblemente por el aumento del nivel de CO₂, según la bibliografía.
10. La incidencia de mancha parda se redujo en las lechugas envasadas en cualquier polímero no perforado cuando no se preenfriaron, excepto cuando se envasaron en PP de 50 µm, con una atmósfera inicial de aproximadamente 6% de O₂ y sin CO₂ donde la incidencia fue mayor, tanto en las lechugas preenfriadas como en las no preenfriadas. Sin embargo, con el concurso del mismo polímero y una atmósfera inicial de aproximadamente 2% de O₂, sin CO₂, no hubo incidencia de mancha parda, lo que indica el papel fundamental que juega el O₂ en su aparición. Sin embargo, el efecto del preenfriamiento sobre la mancha parda tuvo que ser a un nivel diferente al de la modificación de los gases metabólicos, ya que en esta variedad el preenfriamiento no afectó significativamente al nivel de los gases metabólicos de equilibrio en los espacios de cabeza dentro de los envases.
11. El desarrollo de daños o pardeamiento del cogollo interior fue nulo en las lechugas almacenadas en PP macroperforado. Dentro de los PP no perforados, la alteración se desarrolló más en las lechugas preenfriadas, al contrario que el desarrollo de mancha parda y se intensificó después de 2,5 días a 12°C.
12. El riesgo de aparición de daños o pardeamiento del cogollo interior se redujo con el envasado de las lechugas en PP de 50 µm de espesor y con

modificación activa de la atmósfera. El único tratamiento con envases no perforados sin esta alteración, fue el de PP de 50 μm y con una atmósfera inicial de aproximadamente 2% de O_2 y sin CO_2 sobre las lechugas no preenfriadas.

13. Las podredumbres bacterianas se desarrollaron con más facilidad en las lechugas envasadas en PP macroperforado y no preenfriadas durante el período de comercialización.
14. El mejor tratamiento, a todos los niveles, fue el de las lechugas no preenfriadas envasadas en PP de 50 μm , con una atmósfera inicial de aproximadamente 2% de O_2 y sin CO_2 .

9.5. Lechuga Iceberg ciclo Coolguard

1. Las lechugas conservadas sin ningún tipo de envase plástico presentaron unas pérdidas medias de peso de aproximadamente el 5% después del período de conservación de 14 días a 2°C y de aproximadamente el 7% tras 2,5 días adicionales a 12°C. Esto se tradujo en un marchitamiento severo que hizo las lechugas inercializables.
2. Ni el preenfriamiento, ni el período adicional a la refrigeración de 2,5 días a 12°C, afectaron significativamente las pérdidas de peso por deshidratación ni el marchitamiento de las lechugas envasadas en PP macroperforado.
3. Las pérdidas de peso de las lechugas envasadas en PP no perforados fueron insignificantes (< 0,1% del peso fresco inicial). El período de comercialización aumentó significativamente la pérdida de peso en las lechugas almacenadas en PP no perforados, aunque este efecto fue insignificante y visualmente no apreciable debido a los valores tan bajos de deshidratación obtenidos en estos tipos de envase.
4. La calidad de las lechugas envasadas en PP no perforados se vio reducida, pero siempre a niveles aceptables, durante la comercialización, con un descenso tan leve que no siempre se puso de manifiesto. A la misma conclusión se llegó en las lechugas preenfriadas al término del período de conservación, aunque posteriormente, durante la comercialización, la calidad se igualó con las no preenfriadas.
5. La mayor incidencia y severidad de nevaduras rosáceas se obtuvo en las lechugas que se almacenaron sin envase plástico después del período de 2,5 días a 12°C, seguido de las lechugas envasadas en PP macroperforado. Esta alteración fue la más frecuente de todas.
6. La mancha canela fue una alteración frecuente. Su incidencia fue independiente de los tipos de período de almacenamiento y del preenfriamiento, por lo que más que por la temperatura, la incidencia de esta alteración se vio influenciada por el tipo de envase utilizado. El mayor riesgo de incidencia estuvo en las lechugas almacenadas sin envase, en PP

macroperforado y en PP no perforados de 40 μm . En este último caso, se puso de manifiesto que el efecto favorable de los PP no perforados sobre el control de la mancha canela no fue exclusivamente debido a la modificación de los gases metabólicos del espacio de cabeza del envase.

7. La mancha parda y los daños o pardeamientos del cogollo únicamente aparecieron con PP no perforados, pero tuvo una incidencia muy suave y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, los daños o pardeamientos del cogollo no aparecieron en PP de 25 μm .
8. La incidencia de podredumbres bacterianas fue esporádica, no sujeta a tendencias con el período de comercialización, tipo de polímero plástico ni con el preenfriamiento. Además fue siempre de carácter muy leve.

9.6. Lechuga Iceberg ciclo Astral

1. Durante el período de comercialización de 2,5 días a 13°C, se produjo un aumento significativo de las pérdidas de peso de las lechugas envasadas en PP macroperforado. Sin embargo, en las lechugas envasadas en PP perforados, las pérdidas de peso fueron casi imperceptibles (menor de aproximadamente 0,12% del peso fresco inicial); aunque se detectaron generalmente mayores pérdidas de peso en las lechugas envasadas en los polímeros de 25 μm de espesor que en los de 40 μm .
2. El preenfriamiento no tuvo efecto significativo sobre las pérdidas de peso, probablemente debido a la rapidez de enfriamiento en cámara de las lechugas no preenfriadas y al mantenimiento de la cadena de frío.
3. Existió cierto riesgo de un marchitamiento leve, por encima del límite de aceptabilidad, en la lechuga envasada en PP macroperforado. Esto no constituyó ningún problema de comercialización, pero sí un decremento de la calidad.
4. La calidad de las lechugas disminuyó durante el período de comercialización de forma significativa, especialmente las envasadas en PP macroperforado. Dentro de los polímeros no perforados, únicamente no se detectó este decremento en las lechugas envasadas en PPB de 40 μm .
5. Las nervaduras rosáceas aparecieron principalmente en las lechugas envasadas en PP macroperforado.
6. El preenfriamiento favoreció la incidencia y severidad de nervaduras rosáceas en el sentido de que las lechugas preenfriadas y comercializadas en PP macroperforado tuvieron un elevado riesgo de pérdida de producto por la moderada intensidad de la alteración.
7. La comercialización de la lechuga en polímeros de PP estándar y biorientado de 25 y 40 μm redujeron la incidencia de nervaduras rosáceas.

8. No hubo incidencia de mancha canela, alteración fisiológica habitual en otras variedades de lechuga Iceberg.
9. No hubo mancha parda en las lechugas envasadas en PP macroperforados.
10. De manera global, las lechugas envasadas en PP no perforados tuvieron riesgo de incidencia de mancha parda pero de carácter muy leve, no comprometiendo la comercialización de la lechuga. Este riesgo se incrementó, cuando las lechugas se preenfriaron.
11. El período de comercialización no supuso ningún problema relacionado con el incremento de mancha parda.
12. Atribuyendo al tipo de AM el papel más importante para la incidencia de mancha parda y daños o pardeamientos del cogollo, la combinación más peligrosa fue 6-8% CO₂ + 8-9% O₂
13. Las lechugas envasadas en PP macroperforado no sufrieron daños o pardeamientos del cogollo.
14. El preenfriamiento de las lechugas favoreció la incidencia de daños o pardeamientos del cogollo, excepto en las lechugas envasadas en PP estándar de 25µm de espesor.
15. Los daños o pardeamientos del cogollo no se incrementaron durante el período adicional de comercialización de 2,5 días a 13°C.
16. El preenfriamiento presentó una acción positiva para inhibir las podredumbres bacterianas, principalmente durante la comercialización. Además, las lechugas envasadas en PP macroperforado fueron más sensibles a las podredumbres que las envasadas en PP no macroperforados.

9.7. Conclusiones globales sobre la conservación de la lechuga Iceberg

9.7.1. Pérdidas de peso, marchitamiento y calidad visual

1. Se han distinguido tres poblaciones en relación a estos tres parámetros: las cabezas de lechuga sin envasar, las envasadas en PP macroperforados y las envasadas en PP no perforados. Las pérdidas de peso y el marchitamiento han sido mayores en la primera población, seguido por la segunda. Lógicamente, estos dos parámetros repercuten directamente sobre la calidad visual externa, por lo que la mejor calidad visual se ha obtenido en las lechugas envasadas en PP no perforados y la peor en las lechugas sin envasar debido a un elevado aumento del marchitamiento que se reflejó fundamentalmente en la hoja externa del cogollo.
2. Dentro de la población de PP no perforados, generalmente no se han distinguido variaciones significativas entre los distintos espesores, es decir,

desde 25 μm hasta 50 μm (a excepción del ciclo Astral, donde hubo una ligera, pero significativa, mayor pérdida de peso en las lechugas envasadas en 25 μm), ni entre la modificación activa o pasiva de la atmósfera. Sin embargo, el preenfriamiento bajo vacío tuvo un efecto favorable en la reducción de las pérdidas de peso y una leve mejora de la calidad visual, pero únicamente en el ciclo Salinas. Además, el PPB disminuyó las pérdidas de peso y mejoró la calidad visual en la lechuga del ciclo Astral.

9.7.2. Alteraciones fisiológicas

El efecto de los diferentes factores tenidos en cuenta se debe valorar respecto a las diferencias en la incidencia de las alteraciones puestas de manifiesto y respecto a la intensidad global de las alteraciones durante los períodos de almacenamiento considerados. Lógicamente, la alteración (en este caso podredumbre) más importante es la podredumbre bacteriana, ya que ésta, por muy leve que sea, provoca una pérdida comercial íntegra del producto.

1. La utilización de los PP no perforados ha supuesto una mejora sustancial en la reducción de la incidencia y severidad de las alteraciones comunes de nervaduras rosáceas y mancha canela, si bien el preenfriamiento bajo vacío se ha mostrado muy variable en cuanto a su influencia sobre estas alteraciones. De este modo, la primera alteración mencionada anteriormente aumentó en las lechugas preenfriadas de los ciclos Salinas y Astral, mientras que la mancha canela se vio reducida con el preenfriamiento en la lechuga Salinas. El ciclo Astral no se vio afectado por este desorden (mancha canela). Los tratamientos de envasado más eficaces para reducir o inhibir el desarrollo de nervaduras rosáceas a veces se dieron con el concurso de la modificación activa de la atmósfera, como fue el caso de la lechuga Salinas envasada en PP de 50 μm con modificación activa inicial de la atmósfera de 2% O_2 y 0% CO_2 (tratamiento que inhibió por completo el desarrollo de mancha canela), y otras veces simplemente en atmósfera pasiva, es el caso del PPS y PPB de 25 y 40 μm en el ciclo Astral. Normalmente, durante el período de supervivencia comercial que sigue al de conservación, estas alteraciones aumentaron en incidencia y severidad, pero en la inmensa mayoría de los casos mostraron un mejor comportamiento que el PP macroporoso.
2. En relación a la incidencia y severidad de mancha parda y daños del cogollo, la utilización de los envases no macroporosos ha traído consigo el riesgo de aparición de estos dos desórdenes, pero hay que tener en cuenta que un adecuado manejo del diseño del envase impide el desarrollo de éstas. De nuevo, la aparición de estas alteraciones siguió una tendencia dispar en relación con la aplicación del preenfriamiento bajo vacío. El preenfriamiento favoreció la aparición de daños o pardeamientos del cogollo en los ciclos Salinas y Astral (a excepción de en PP de 25 μm en Astral). En Salinas, el tratamiento de PP de 50 μm en atmósfera activa redujo su incidencia. En relación a la mancha parda, el resultado fue contradictorio entre los ciclos Salinas y Astral. En el primer ciclo, el preenfriamiento redujo su incidencia, mientras que en el segundo lo aumentó. En el ciclo Coolguard no tuvo

ninguna influencia el tipo de envasado no perforado o el preenfriamiento en la evolución de estas dos alteraciones.

9.7.3. Alteraciones microbianas

La única alteración que afectó a las lechugas durante períodos en torno a dos semanas de almacenamiento fue la podredumbre blanda bacteriana provocada por *Erwinia carotovora*. Se debe considerar que las podredumbres bacterianas pueden tener un efecto casual en algunas lechugas debido a la existencia de heridas o magulladuras no puestas de manifiesto al inicio de las experiencias por la falta de oxidación de los tejidos afectados. Este importante factor, los daños mecánicos leves, no cabe duda que pudo tener una importante influencia en el residuo del análisis de la varianza. En relación a esta alteración se concluye que:

1. El envasado de la lechuga Iceberg en polímeros plásticos no perforados y dotados de permeabilidades adecuadas al diseño del envase ha reducido significativamente la incidencia de podredumbres.
2. El preenfriamiento se mostró beneficioso en el control de esta enfermedad.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M.R., Moss, M.O.** 1995. Microbiología de los alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 464 p.
- Aharoni N., Ben-Yehosua S.** 1973. Delaying deterioration of romaine lettuce by vacuum cooling and modified atmosphere produced in polyethylene packages. *Journal of American Society for Horticultural Science* 98: 464-468.
- Aharoni, N., Back, A., Ben-Yehoshua, S., Richmond, A.E.** 1975. Exogenous gibberellic acid and the cytokinin isopentenyladenine retardants of senescence in Romaine lettuce. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 100(1): 4-6.
- Albert-Bernal, A., Reig-Feliu, A., Pérez-Nievas, C.** 1967. Influencia de la prerrefrigeración en el almacenamiento frigorífico de hortalizas de hoja ancha. En: *XII Congreso Internacional del Frío*, Anales de Investigaciones Agronómicas, Madrid, p. 221-246.
- Alcázar, M.D., Egea, C., Espín, A., Candela, M.E.** 1995. Peroxidases isoenzymes in the defense response of *Capsicum annum* to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 94: 736-742.
- Alger, M.M., Stanley, T.J.** 1988. Measurement of oxygen transport parameters in polymer films initially saturated with air. *Journal of Applied Polymer Science* 36: 1501-1511.
- Alique, R., Lamúa, M., Cuesta, F.J.** 1987. Prerrefrigeración de frutas y hortalizas. III. Criterios para la elección del sistema. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 6(1): 129-134.
- Allende, A., Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., Artés, F.** 2002. Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. *Journal of Food Protection* 65: 1565-1573.
- Allende, A., Artés, F.** 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 36: 779-786.
- Anónimo.** 1993. Improving the quality o packaged Romaine lettuce. *Produce Technology Monitor* 3(9): 1-2.
- Arteca, R.N.** 1996. Plant growth substances. Principles and applications. Chapman & Hall, New York, EE.UU., 332 p.
- Artés, F.** 1974. Generación y estabilización de atmósferas especiales mediante el empleo de membranas de polímeros plásticos. Aplicaciones a la conservación de tomate. *Memorias CEBAS-CSIC*, XIV, 258: 1-12.

- Artés, F.** 1976. Estudio y aplicación de membranas de polímeros para generar y estabilizar atmósferas modificadas. Universidad Politécnica de Valencia. Ed. CEBAS-CSIC, Murcia, Tesis Doctoral, 294 p.
- Artés, F.** 1977. Técnicas de generación de atmósfera controlada en instalaciones frigoríficas convencionales. *Información Técnica Económica Agraria* 26:56-64.
- Artés, F.** 1987. Refrigeración y comercialización hortofrutícola en la Región de Murcia. 2ª ed. Ed. CEBAS-CSIC, Murcia, España, 150 p.
- Artés, F.** 1993. Diseño y cálculo de polímeros sintéticos de interés para la conservación hortofrutícola en atmósfera modificada. En: *Nuevo Curso de Ingeniería del Frío*. Ed. Colegio Oficial de Ingenieros Agrónomos, A. Madrid (ed.), 2ª edición, Madrid, España, p. 427-453.
- Artés F., Escriche A.J., Marín J.G.** 1993. Treating Primofiori lemons in cold storage with intermittent warming and carbon dioxide. *HortScience* 28: 819-821.
- Artés, F. Martínez, J.A.** 1994. Effects of vacuum cooling and packaging films on the shelf life of 'Salinas' lettuce. En: *Proceeding of International Conference Refrigeration and Quality of Fresh Vegetables*. International Institute of Refrigeration, 5: 311-315.
- Artés, F.** 1995a. Innovaciones en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección. I. Pretratamientos térmicos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 35(1); 45-64.
- Artés, F.** 1995b. Innovaciones en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección. II. Tratamientos térmicos cíclicos. *Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 35(2); 139-149.
- Artés, F., Martínez, J.A.** 1996. Influence of packaging treatments on the keeping quality of 'Salinas' lettuce. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 29: 664-668.
- Artés, F., Vallejo, F., Martínez, J.A.** 1996. Determining gas permeability characteristics of some suitable plastic films for minimally processed foods. GDL/EFFoST Conference. The European Federation of Food Science and Technology. 6-8 noviembre. Colonia. Alemania. CD-ROM.
- Artés, F., Martínez, J.A.** 1998. Gas transmission characteristics of different films used for packaging intact and minimally processed fruits and vegetables. En: *International Congress for Plastic in Agriculture*. Ben-Yehoshua, S. (ed.), Tel-Aviv, Israel, p. 481-486.
- Artés, F., Castañer M., Gil, M.I.** 1998a. Enzymatic browning in minimally processed fruit and vegetables. El pardeamiento enzimático de frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Food Science and Technology International* 4(6): 377-389.

- Artés F., Marín J.G., Martínez J.A.** 1998b. Permeability rates of films for modified atmosphere packaging of respiring foods. En: *Food Quality Modelling – Edit. European Commission*. Nicolai, B.M. y De Baerdemaeker, J.D. (eds.), Leuven, Bélgica, p. 153-158.
- Artés, F., Martínez, J.A., Marín, J.G.** 1999. Quality changes in minimally processed ‘Romaine’ lettuce as affected by several treatments. En: *Agri-Food Quality II. Quality Management of Fruits and Vegetables – From Field to Table*. Hägg, M., Ahvenainen, R., Evers, A.M., Tiilikkala, K. (eds.), The Royal Society of Chemistry, Londres, Reino Unido, p. 115-118.
- Artés, F.** 2000. Conservación de los productos vegetales en atmósfera modificada. En: *Aplicación del frío a la conservación de productos perecederos*. Lamúa, M. (ed.), A. Madrid Vicente Ediciones, Madrid, Cap. 4. 105-125.
- Artés, F., Artés-Hernández, F.** 2000. Fundamentos y diseño de instalaciones para procesado en fresco de hortalizas. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 3: 135-141.
- Artés, F., Escalona, V.H., Artés-Hernández, F.** 2002 Modified atmosphere packaging of fennel. *Journal of Food Science* 67(4): 1550–1554.
- Artés, F., Artés-Hernández, F.** 2004a. Reducción de daños por el frío en la refrigeración hortofrutícola. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 186: 56-64.
- Artés, F., Artés-Hernández, F.** 2004b. Designing new industrial factories for minimal fresh processing of plant products. En: *Proceedings of the CIGR International Conference on Agricultural Engineering*, Beijing, China. 20-133A. En CD-ROM.
- Artés, 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 Poscosecha* 7 (1):41–47.
- ASTM: D 1434-82.** 1988. Standard test method for determining gas permeability characteristic of plastic film and sheeting. En: *ASTM Methods*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, EE.UU., p. 257-268.
- ASTM: D 3985-81.** 1988. Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using coulometric sensor. En: *ASTM Methods*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, EE.UU., p. 641-646.
- Azaustre, M., Sánchez, J., Villalobos, M.** 2003. Estadística aplicada al laboratorio. Ed. CEYSA, Cano Pina, S.L., Barcelona, España, 256 p.
- Ballantyne, A.** 1988. Modified atmosphere packaging of vegetables. En: *Symposium on Quality of Vegetables Towards the 21st Century*. Dennis, C. (ed.), Chipping Campden, Luddington, Reino Unido, 248 p.
- Ballantyne, A.** 1989. Modified atmosphere packaging of vegetables. *Acta Horticulturae* 244: 153-162.

- Barceló, J., Nicolás, G., Sabater, B. Sánchez, R.** 1998. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide, Madrid, 662 p.
- Barger, W.R.** 1963. Vacuum precooling. A comparison of cooling of different vegetables. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture, p. 1-12.
- Barkai-Golan, R.** 1990. Postharvest disease suppression by atmospheric modifications. En: *Food Preservation by Modified Atmospheres*. Barkai-Golan, R., Calderón, M. (ed.), MA Press, Boca-Ratón, EE.UU., Capítulo 13: 237-264.
- Bartsch, J.A., Kline, R.** 1992. Introduction. Produce handling. En: *Produce Handling for Direct Marketing*. Celentano, D. (ed.), New York, EE.UU., Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 26 p.
- Beaudry, R.M.** 1993. Effect of carbon dioxide partial pressure on blueberry fruit respiration and respiratory quotient. *Postharvest Biology and Technology* 3: 249-258.
- Beaudry, R., Lakakul, R.** 1995. Basic principles of modified atmosphere packaging. *Tree Fruit Postharvest Journal* 6(1): 7-13.
- Bennik, M.H.J.** 1997. Biopreservation in modified atmosphere packaged vegetables. Wageningen Agricultural University. Tesis Doctoral, Wageningen, Holanda, 96 p.
- Berger, H.** 1998. Calidad, normalización e inspección. En: *Manejo Postcosecha de Frutas y Verduras en Iberoamérica*. Báez, R. (ed.), Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED-RITEP), Hermosillo, Sonora, México, p. 77-82.
- Billiard, F., Letang, G., Phillipon, J.** 1995. Specificities of vegetables in the chain of fresh produce. En: *Bulletin International Institute of Refrigeration*, LXXV, p. 5-11.
- Bohling, H., Bauer, B.** 1993. Determination of the respiration activity of fruit and vegetables in controlled atmospheres using an automatic measuring device. *Acta Horticulturae* 343: 161-162.
- Bolin, H.R., Stafford, A.E., King, A.D., Huxsoll, C.C.** 1977. Factors affecting the storage storability of shredded lettuce. *Journal of Food Science* 42(5): 1319-1321,
- Brecht, P.E., Kader, A.A., Morris, L.L.** 1973a. Influence of postharvest temperature on brown stain of lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 98(4): 399-402.
- Brecht, P.E., Kader, A.A., Morris, L.L.** 1973b. The effect of composition of the atmosphere and duration of exposure on brown stain of lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 98(6): 536-538.
- Brecht, P., Morris, L., Cheyney, C., Janecke, D.** 1973c. Brown stain susceptibility of selected lettuce cultivars under controlled atmospheres and temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 98: 261-264.

- Brecht, J.K., Sherman, M., Allen, J.J.** 1996. Film wrapping to improve the postharvest quality of Florida head lettuce. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 99: 135-140.
- Brody, A.L.** 1996. Integrating aseptic and modified atmosphere packaging to fulfill a vision of tomorrow. *Food Technology* abril: 56-66.
- Browne, C.W.** 1944. Packaging. En: *The Chemistry and Technology of Food and Food Products* (vol II). Jacobs, M.B. (ed.), New York, EE.UU., Interscience Publishers, Inc., p. 425-429.
- Burg, S.P.** 1975. Hypobaric storage and transportation of fresh fruits and vegetables. En: *Symposium: Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables*. Haard, N.F., Salunkhe, D.K. (eds.), The Avi Publishing Company, Inc., Connecticut, EE.UU., p. 172-188.
- Burton, W.G.** 1978. Biochemical and physiological effects of modified atmospheres and their role in quality maintenance. En: *Postharvest Biology and Biotechnology*. Hultin, H.O., Milner, M. (eds.), Food & Nutrition Press, Inc., Connecticut, EE.UU., p. 97-110.
- Cameron, A.C.** 1989. Modified atmosphere packaging: a novel approach for optimizing package oxygen and carbon dioxide. En: *International Controlled Atmosphere Research Conference*. Wenatchee, EE.UU., II: 197-207.
- Cameron, A.C., Talasila, P.C., Joles, D.W.** 1995. Predicting film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30(1): 25-34.
- Candela, M.E., Muñoz, R., Alcazar, M.D., Espín, A.** 1994. Isoperoxidase involvement in *Capsicum annuum* infection by cucumber mosaic virus. *Journal of Plant Physiology* 143: 213-217.
- Cantwell, M.** 1995. Fresh-cut product biology requirements. *University of California Perishables Handling Newsletters* 81:4-6.
- Cantwell, M., Suslow, T.** 2006. Lettuce: Crisphead or Iceberg. Recommendations for maintaining postharvest quality. Acceso enero, 2010.
<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/lettuce.shtml>.
- Casanova, E.** 1996. El cultivo de la lechuga en la Región de Murcia. *Agrícola Vergel* 15(178): 580-583.
- Castañer, M., Gil, M.I., Artés, F.** 1995. Browning development on lettuce stem during storage. En: *Current Trends in Fruit and Vegetables Phytochemistry*. García-Viguera, C., Castañer, M., Gil, M.I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A. (eds.), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España, p. 225-228.
- Castañer, M., Gil, M.I., Artés, F., Tomás-Barberán, F.A.** 1996. Inhibition of browning of harvested head lettuce. *Journal of Food Science* 61(2): 314-316.

- Catalá, R., Gavara, R.** 1996. Review: Alternative high barrier polymers for food packaging. *Food Science and Technology International* 2: 281-291.
- Chatterjee, A., Murata, A.H., McEvoy, J.L.** 1994. Global regulation of pectinases and other degradative enzymes in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, the incitant of postharvest decay in vegetables. *HortScience* 29(7): 754-758.
- Chaves, A.R., Eisenberg, P., Fernández Lozano, J., Limongelli, J.C., Lucas J.C., Mollo, M., Mugridge, A.** 1998. Uso de películas biodegradables y biodesintegrables en la conservación refrigerada de hortalizas para consumo en fresco. En: *II Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos: Tecnología para el Procesamiento y Conservación de Alimentos*, Buenos Aires, Argentina, Edita, vol I, p. 25.
- Chazarra, S., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F.** 1996. Partial purification and characterization of latent polyphenol oxidase in Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(4): 984-988.
- Chicharro, A.** 1983. Medida del color en la industria de la alimentación. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 2(3): 153-156.
- Chiesa, A., Seija, E., Moccia, S., Frezza, D.** 2004. Fresh cut lettuce (*Lactuca sativa* L.) quality as affected by packaging material. *European Journal of Horticultural Science* 69(1): 21-28.
- Christie, G.B.Y., Macdiarmid, J.I., Schliephake, K., Tomkins, R.B.** 1995. Determination of film requirements and respiratory behaviour of fresh produce in modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology* 6: 41-54.
- Chu, C.L., Wang, S.L.** 2001. Effect of cutting style, low-oxygen atmosphere and cold temperature on the respiration rate of minimally processed vegetables. En: *Proceedings of the 4th International Conference on Postharvest Science*. Ben-Arie, R., Philosoph-Hadas, S. (eds.). ISHS Commission Postharvest 2: 691-692.
- Church, I.J. Parsons, A.L.** 1995. Modified atmosphere packaging technology: A review. *Journal of Science and Food Agriculture* 67: 143-152.
- Couture R., Cantwell M.I., Ke D., Saltveit Jr. M.E.** 1993. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. *HortScience* 28: 723-725.
- Day, B.P.F.** 1994. Intelligent and active packaging of fresh fruit and vegetables. En: *The Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables-Current Status and Future Prospects*. Woltering, E.J., Gorris, L.G., Jongen, W.M.F., McKenna, B., Höhn, E., Bertolini, P., Woolfe, M.L., de Jager, A., Ahvenainen, R., Artés Calero, F. (eds.), *Proceedings of the Sixth International Symposium of the European Concerted Action Program COST 94*, Oosterbeek, Holanda, p. 49-54.
- Díaz, T., Espí, E., Fontecha, A., Jiménez, J.C., López, J., Salmerón, A.** 2001. Los filmes plásticos en la producción agrícola. Repsol YPF – Mundi-Prensa, Madrid, España, 320 p.

- Dickinson, C.H., Lucas, J.A.** 1987. Patología vegetal y patógenos de plantas. Ed. Limusa, Méjico, 312 p.
- DIN 53380.** 1969. Ensayo de láminas de materia sintética. Determinación de la permeabilidad al gas. Norma alemana traducida por AENOR (sin certificado de garantía), 5 p.
- Debeaufort, F., Voilley, A.** 1994. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 42: 2871-2875.
- De la Plaza, J.L.** 1993. Practical determination of the respiration rate in controlled atmosphere (CA) stores. En: *Systems and Operations for Post-Harvest Quality*. De Baerdemaeker, J., Mc Kenna, B., Janssens, M., Thompson, A., Artés Calero, F., Höhn, E., Somogyi, Z. (eds.), *COST 94: Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables*. Leuven, Bélgica, p. 131-134.
- Dennis, C.** 1987. Fungi. En: *Postharvest Physiology of Vegetables*, Weichmann, J. (ed.), Marcel Dekker, Inc., cap. 19, New York, EE.UU., p. 377-411.
- De Wild, H.P.J., Woltering, E.J., Peppelenbos, H.W.** 1999. Carbon dioxide and 1-MCP inhibit ethylene production and respiration of pear fruit by different mechanisms. *Journal of Experimental Botany* 50, 837-844.
- Egea, C., García Pérez, M.D., Candela M.E.** 1995. Phytoalexin accumulation in *Capsicum annum* stems during the hypersensitive reaction to *Phytophthora capsici*. En: *Current Trends in Fruit and Vegetables Phytochemistry*. García-Viguera, C., Castañer, M., Gil, M.I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A. (eds.), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España, p. 199-204.
- El-Goorani, M.A., Sommer, N.F.** Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. *Horticultural Reviews* 3: 412-461, 1981.
- Escriche, A.J., Artés, F., Martínez, J.A.** 1994. Alteraciones de origen patológico en la postrecolección: II Lechuga. *Phytoma* 54: 23-27.
- Espinosa, J.** 1993. Envasado de alimentos en atmósferas modificadas. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 12(5): 53-63.
- Evelo, R.G.** 1993. Modelling modified atmosphere systems. En: *Systems and Operations for Post-Harvest Quality*. de Baerdemaeker, J., Mc Kenna, B., Janssens, M., Thompson, A., Artés Calero, F., Höhn, E., Somogyi, Z. (eds.), *COST 94. Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables*, Leuven, Bélgica, p. 147-153.
- Exama, A., Arul, J., Lencki, R.W., Lee, L.Z., Toupin, C.** 1993. Suitability of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Journal of Food Science* 58(6): 1365-1370.

- Ezziyani, M., Requena, M.E., Candela, M.E.** 2005. Producción de proteínas-PR en la inducción de resistencia a *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) tratadas con *Trichoderma harzianum*. *Anales de Biología* 27: 143-153.
- Fellers, C.R.** 1955. Food preservation. En: *Handbook of Food and Agriculture*. Blanck, F.C. (ed.), Reinhold Publishing Corporation, New York, EE.UU., p. 331-363.
- Fernández-Trujillo J.P., Artés, F.** 1997. Keeping quality of cold stored peaches using intermittent warming. *Food Research International* 30: 441-450.
- Fernández-Trujillo J.P., Martínez J.A., Artés F.** 1998. Modified atmosphere packaging affects the incidence of cold storage disorders and keeps flat peach quality. *Food Research International* 31(8): 571-579.
- Floros, J.D.** 1990. Controlled and modified atmospheres in food packaging and storage. *Chemical Engineering Progress* junio: 25-32.
- Francis, G.A., Thomas, C., O'Beirne, D.** 1999. The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science and Technology* 34: 1-22.
- Frutos, M.** 1993. Envasado de productos alimenticios bajo atmósferas modificadas. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 8: 95-100.
- Fujita, S., Tono, T., Kawahara, H.** 1991. Purification and properties of polyphenol oxidase in head lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 55: 643-651.
- García-Morató, M.** 1995. Plagas, enfermedades y fisiopatías del cultivo de la lechuga en la Comunidad Valenciana. Generalitat Valenciana, Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació, Valencia, España, 187 p.
- Giese, J.** 1997. How food technology covered modified-atmosphere packaging over the years. *Food Technology* 51(6): 76-77.
- Gil, M.I., Martínez, J.A., Artés, F.** 1995. Minimally processed pomegranate seeds. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 29: 708-713.
- Glick, F.** 2004. El gran deshielo. *National Geographic España*, septiembre: 14-33.
- Gong, S., Corey, K.A.** 1992. Rapid testing of films for modified atmosphere packages using an active modification technique. *HortTechnology* 2(3): 358-361.
- González, A., Vicente, F., Martínez, V., Fernández, J.A.** 1994. Panorama actual del cultivo de la lechuga en la Región de Murcia. *Agrícola Vergel* 13(151): 380-385.
- González, G.A., Cruz, R., Báez-Sañudo, R.** 1998. Envasado de productos hortícolas en atmósferas modificadas y controladas. En: *Manejo Postcosecha de Frutas y Verduras en Iberoamérica*, Báez, R. (ed.), Programa Iberoamericano de Ciencia y

- Tecnología para el Desarrollo (CYTED-RITEP), Hermosillo, Sonora, México, p. 47-56.
- Gorny, J.R.** 1997a. Modified atmospheres packaging and the fresh cut revolution. *Perishables Handling Newsletter* 90:4-5.
- Gorny, J.R.** 1997b. A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. En: *Proceedings of Seventh International Controlled Atmosphere Conference, Fresh-Cut Fruits and Vegetables and MAP*, University of California, Davis, CA, 5: 30-66.
- Gorny, J.R., Gil, M.I.** 1997. Selección del material de envasado. *Horticultura Internacional* 16: 17-23.
- Gorris, L.G.M., Peppelenbos, H.W.** 1992. Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products. *HortTechnology* 2(3): 303-309.
- Gorris, L.G.M.** 1998. An integrated approach to optimize modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. En: *CIPA. Proceedings of the International Congress for Plastics in Agriculture*. Aloni, B., Grinstein, A., Shmulevich, I., Alcalay, C. (eds.), Tel-Aviv, Israel, p. 463-474.
- Gorris, L.G.M., Bochereau, L.** 1998. Bio-packaging for contemporary product. *RTD info* 18.
- Goyette, B., Vigneault, C., Raghavan, G.S.V.** 1994. Effect of argon on gas chromatographic analysis for controlled atmosphere storage. *Transactions of the ASAE* 37(4): 1221-1224.
- Grogan, R.G., Patterson, C.L., Waters, C.M., Dillard, H., Delp, B.** 1984. Development of procedures for optimal control of fungal, bacterial and physiological diseases of lettuce. En: *California Iceberg Lettuce Research Program Annual Report*, p. 16-30.
- Guilbert, S., Gontard, N., Gorris, L.G.M.** 1996. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 29: 10-17.
- Guo, C.J., De Kee, D., Harrison, B.** 1995. Diffusion of organic solvents in rubber membranes measured via a new permeation cell. *Journal of Applied Polymer Science* 56: 823-829.
- Haas, E. y Gur, G.** 1987. Factors affecting the cooling rate of lettuce in vacuum cooling installations. *International Journal of Refrigeration* 10: 82-86.
- Hall, C.B., Stall, R.E., Burdine, H.W.** 1971. Association of *Pseudomonas marginalis* with pink rib of lettuce. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 84: 163-165.

- Hanson, L.P.** 1975. Stems, leaves and flower heads. En: *Commercial Processing of Vegetables*, Noyes Data Corporation, New Jersey, EE.UU., p. 296-305.
- Hao, Y.Y., Brackett, R.E.** 1994. Pectinase activity of vegetable spoilage bacteria in modified atmosphere. *Journal of Food Science* 1: 175-178.
- Hardh, J.E.** 1974. Quality of vegetables for fresh use and for processing. En: *XIXth International Horticultural Congress*, Warsaw, Polonia, p. 429-435.
- Hardenburg, R.E.** 1963. Controlling carbon dioxide concentrations within sealed polyethylene-lined boxes of apples, oranges, and lettuce with hydrated lime inserts. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 82: 83-91.
- Hardenburg, R.E.** 1971. Effect of in-package environment on keeping quality of fruits and vegetables. *HortScience* 6(3): 198-201.
- Hardenburg, R.E., Watada, A.E., Wang, C.Y.** 1986. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. U.S.D.A. Agriculture Handbook No. 66, 130 p.
- Hardy, A.C.** 1936. The physical basis of color specification. En: *Handbook of Colorimetry*. Hardy, A.C (ed.). The Technology Press. Massachusetts Institute of Technology, Massachusetts, EE.UU., p. 1-13.
- Harris, R.S.** 1960. The effects of agricultural practices on the composition of foods. A. foods of plant origin. En: *Nutritional Evaluation of Food Processing*. Harris, R.S., Vov Loesecke, H. (eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, EE.UU., p. 5-24.
- Heimdal, H., Larsen, L.M., Poll, L.** 1994. Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (*Lactuca sativa*). *Journal of Agricultural Food Chemistry* 42: 1428-1433.
- Heiss, R.** 1977. The product, the pack, the distribution (the problems of a total system). En: *7th European Symposium-Food Product and Process Selection in the Food Industry*, European Federation of Chemical Engineering, Eindhoven, Holland, p. 51-58.
- Hernández, J., Berria, D., Arteaga, G.** 1996. Bacterias patógenas de las plantas. *Agrícola Vergel* diciembre: 686-688.
- Heywood, V.H.** 1985. Las plantas con flores. Ed. Reverté, S.A., Barcelona, España, 332 p.
- Hocking, A.D.** 1990. Responses of fungi to modified atmospheres. En: *Proceedings of an International Conference Held at Singapore*. Champ, B.R., Highly, E., Banks, H.J. (eds.), Singapore, p. 70-82.
- Holdsworth, S.D.** 1983. The preservation of fruit and vegetable food products. McMillan Press, London, Reino Unido, 159 p.

- Huber, D.J.** 1987. Postharvest senescence: An introduction to the Symposium. *HortScience* 22(5): 853-854.
- Hyodo, H., Kuroda, H., Yang, S.F.** 1978. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. *Plant Physiology* 62: 31-35.
- Ibáñez, J.A.** 1989. Fundamentos de los procesos de transporte y separación de membranas. Ed. Universidad de Murcia. Serie: *Procesos de Transporte y Separación de Membranas*, vol. 1, Murcia, España, 171 p.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods.** 1996. Lechugas. En: *El Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos. Su Aplicación a la Industria de Alimentos*. Siliker, J.H., Baird-Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Roberts, T.A., and Tompkin, R.B. (eds.), Editorial Acribia, Zaragoza, España, p. 140-146.
- IIF. Institut International du Froid.** 1979. Conditions recommandées pour la conservation de produits périssables a l'état refrigerée. Institut International du Froid, Paris, Francia, 148 p.
- Ilker, Y., Kader, A.A., Ilker, R., Morris, L.L.** 1977. Anatomy of lettuce tissue affected by three physiological disorders. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 102(4): 426-428.
- Imolehin, E.D., Grogan, R.G.** 1980. Effects of oxygen, carbon dioxide, and ethylene on growth, sclerotial production, germination, and infection by *Sclerotinia minor*. *Phytopathology* 70: 1158-1161, 1980.
- Ito, T., Nakamura, R., Inaba, A.** 1985. Changes of respiration rate in several kinds of vegetables under fluctuating temperatures. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University* 65: 33-37.
- Jacobson, M.** 1972. Physical and chemical tests of food quality. En: *Food Theory and Applications*. Paul, P.C., Palmer, H.H. (eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, EE.UU., p. 739-777.
- Janick, J.** 1979a. Horticultural Reviews (vol. 1), Janick, J. (ed.), Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, EE.UU.
- Janick, J.** 1979b. Horticultural Reviews (vol. 2). Janick, J. (ed.), Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, EE.UU.
- Jay, J.M.** 1978. Modern Food Microbiology. 2ª Ed. Van Nostrand, New York, EE.UU., 479 p.
- Kader, A.A., Lipton, W.J., Morris, L.L.** 1973. Systems for scoring quality of harvested lettuce. *HortScience* 8: 408-409.

- Kader, A.A., Morris, L.L.** 1977. Relative tolerance of fruits and vegetables to elevated CO₂ and reduced O₂ levels. *Horticultural Report* 28: 260-275.
- Kader, A.A., Morris, L.L., Klaustermeyer, J.A.** 1977. Physiological responses of some vegetables to carbon monoxide. *Horticultural Report* 28: 197-202.
- Kader, A.A.** 1985a. Methods of gas mixing, sampling, and analysis. En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, Coop. Ext. Univ. of California. Division of Agriculture and Natural Sciences, California, EE.UU., p. 65-67.
- Kader, A.A.** 1985b. Quality factors: Definition and evaluation for fresh horticultural crops. En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Coop. Ext. Univ. of California. Division of Agriculture and Natural Science. Special Publication No. 3311, California, EE.UU., 192 p.
- Kader, A.A.** 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology* 40: 99-104.
- Kader, A.A.** 1987. Respiration and gas exchange of vegetables. En: *Postharvest Physiology of Vegetables*, Weichmann, J. (ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, EE.UU., p. 25-43.
- Kader, A.A., Zagory, D., Kerbel, E.L.** 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28(1): 1-29.
- Kader A.A.** 1990a. Modified atmospheres during transport and storage of fresh fruits and vegetables. En: *I International Congress of Food Technology and Development*. p. 149-163. Murcia, Spain 1: 149-163.
- Kader, A.A.** 1990b. The effect of storage methods on the quality of fresh horticultural crops. *Qualità dei Prodotti Ortofrutticoli Postraccolta* II: 11-26.
- Kader, A.A.** 2002. Postharvest biology and technology: An overview. En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (3^a edición). Kader, A.A. (ed.). Publicación 3311. Division of Agriculture and Natural Resources. Univ. of California, EE.UU., 535 p.
- Karel, M., Issenberg, P., Rosinvali, L., Jurin, V.** 1963. Application of gas chromatography to the measurement of gas permeability of packaging materials. *Food Technology* 327: 91-94.
- Kasmire, R.F.** 1985. Transportation of horticultural commodities. En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Kader, A.A. (ed.). Coop. Ext. Univ. of California. Div. of Agriculture and Natural Sciences, Special publication No. 3311, California, EE.UU., p. 104-110.
- Kays, S.J.** 1991. Development of plants and plant parts. En: *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. Kays, S.J. (ed.), Van Nostrand Reinhold, An Avi Book, New York, EE.UU., p. 304-321.

- Ke, D., Saltveit, M.E., Jr.** 1986. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in Iceberg lettuce. *HortScience* 21(5): 1169-1171.
- Ke, D., Saltveit, M.E., Jr.** 1989a. Regulation of russet spotting, phenolic metabolism, and IAA oxidase by low oxygen in Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114(4): 638-642.
- Ke, D., Saltveit, M.E., Jr.** 1989b. Carbon dioxide induced brown stain development as related to phenolic metabolism in Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114(5): 789-794.
- Kim, G.-H., Wills, R.B.H.** 1995. Effect of ethylene on storage life of lettuce. *Journal of Science and Food Agriculture* 69: 197-201.
- Klaustermeyer, J.A., Kader, A.A., Morris, L.L.** 1977. Effect of controlled atmospheres on insect control in harvested lettuce. *Horticultural Report* 28: 203-204.
- Kobayashi, M., Kanno, T., Hanada, K., Osanai, S.I.** 1995. Permeability and diffusivity of *d*-limonene vapor in polymeric sealant films. *Journal of Food Science* 60(1): 205-209.
- Kramer, A., Twigg, B.A.** 1970. Size and shape. En: *Quality Control for the Food Industry. Fundamentals*. AVI Publishing Company, Inc., Connecticut, EE.UU., p. 63-71.
- Kubo, Y., Inaba, A., Nakamura, R.** 1989. Effects of high CO₂ on respiration in various horticultural crops. *Journal of Japan Society for Horticultural Science* 58(3): 731-736.
- Kubo, Y., Inaba, A., Nakamura, R.** 1990. Respiration and C₂H₄ production in various harvested crops held in CO₂-enriched atmospheres. *Journal of American Society for Horticultural Science* 115(6): 975-978.
- Labuza, T.P.** 1996. An introduction to active packaging for foods. *Food Technology* 50(4): 68-85.
- Lance, C., Moreau, F.** 1992. Les effets métaboliques du froid. En: *Les végétaux et le froid*. D. Côme (ed.). Editorial Hermann. 2, 27-50.
- Lamúa, M., Cuesta, F.J., Alique, R.** 1984. Prerrefrigeración de frutas y hortalizas. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 3(6): 60-68.
- Lamúa, M., Cuesta, F.J., Alique, R.** 1986. Prerrefrigeración de frutas y hortalizas II aplicación. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 5(2): 109-120.
- Landrock, A.H., Proctor, B.E.** 1952. The simultaneous measurement of oxygen and carbon dioxide permeability of packaging materials. *Tappi* 35: 241.

- Langer, R.H.M., Hill, G.D.** 1982. Compositae. En: *Agricultural Plants*. Cambridge University Press, London, Reino Unido, p. 153-164.
- Laties, G.G.** 1995. Review Franklin Kidd, Charles West and F.F. Blackman: the start of modern postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology* 5: 1-10.
- Lebovite, A.** 1966. Permeabilidad de los polímeros a los gases, vapores y líquidos. *Revista de Plásticos Modernos* 121: 535-553.
- Lee, D.S., Hagggar, P.E., Lee, J., Yam, K.L.** 1991. Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *Journal of Food Science* 56(6): 1580-1585.
- Lefaux, R.** 1968. Perméabilité des matières plastiques aux agents physiques, chimiques et microbiens. *Fruits* 23(6): 315-322.
- Leja, M., Mareczek, A.** 1995. Effect of mechanical damage of greenhouse lettuce on some biochemical processes occurring in it during storage. *Folia Horticulturae* 7(1): 75-89.
- Le Ster, F.** 1995. Treatments applicable to chopped fruit and vegetables. Refrigeration. En: *Minimally Processing of Fruit and Vegetables*. Mulet, A., Serra, M. (eds.), p. 145-147.
- Lewis, W.E.** 1957. Maintaining Produce Quality in Retail Stores. Whashington, D.C., EE.UU., U.S. Department of Agriculture. Agriculture Handbook No. 117, 30 p.
- Lioutas, T. S.** 1988. Challenges of controlled and modified atmosphere packaging: a food company's perspective. *Food Technology* 42: 78-86.
- Lipton, W.J.** 1961. Anatomical observations on russet spotting and pink rib of lettuce. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 78: 367-374.
- Lipton, W.J.** 1963. Influence of maximum air temperatures during growth on the occurrence of russet spotting in head lettuce. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 83: 590-595.
- Lipton, W.J., Stewart, J.K.** 1972. An illustrated guide to the identification of some market disorders of head lettuce. Marketing Research Report No. 950, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture.
- Lipton, W.J., Stewart, J.K., Whitaker, T.W.** 1972. An illustrated guide to the identification of some market disorders of head lettuce, Marketing Research Report No. 950. Agricultural Research Service U.S. Department of Agriculture, Beltsville, Md., 27 p.
- Lipton, W.J.** 1975. Controlled atmospheres for fresh vegetables and fruits-why and when. En: *Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables*. Haard, N.F., Salunkhe, D.K. (eds.), The Avi Publishing Company, Inc., Connecticut, EE.UU., p. 130-143.

- Lipton, W.J.** 1977. Toward an explanation of disorders of vegetables induced by high CO₂ or low O₂. *Horticultural Report* 28: 137-141.
- Lipton W.J.** 1987. Carbon dioxide-induced injury of romaine lettuce stored in controlled atmospheres. *HortScience* 22: 461-463.
- Lipton, W.J., Ryder, E.J.** 1989. Lettuce. En: *Quality and Preservation of Vegetables*. Eskin, N.A.M. (ed.), Boca Raton, Florida, EE.UU., CRC Press, Inc.
- Liu, F.W.** 1991. Preenfriado de productos hortícolas. En: *Fisiología y Tecnología Postcosecha de Productos Hortícolas en México*, Yahia, E. M., Inocencio, C. (eds.), Editorial Limusa, Méjico, p. 61-67.
- Loaiza-Velarde, J.G., Tomás-Barberán, F.A., Saltveit, M.E.** 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122(6): 873-877.
- López-Gálvez, G., Saltveit, M., Cantwell, M.** 1996. Wound-induced phenilalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biology and Technology* 9: 223-233.
- Lougheed, E.C.** 1987. Interactions of oxygen, carbon dioxide, temperature, and ethylene that may induce injuries in vegetables. *HortScience* 22(5): 791-794.
- Lutz, J.M., Hardenburg, R.E.** 1968. The Commercial Storage of Fruits, and Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. US Department of Agriculture. Agricultural Research Service, Agriculture Handbook No. 66, EE.UU.
- Llácer, G., López, M.M., Trapero, A., Bello, A.** (eds.) 1996 (Coedición 2000). Patología vegetal. Tomo I. Sociedad Española de Fitopatología, Phytoma y Mundi-Prensa. Madrid, España. 700 p.
- Magnuson, J.A., King, A.D., Török, T.** 1990. Microflora of partially processed lettuce. *Applied and Environmental Microbiology* 56(12): 3851-3854.
- Major, C.J., Kammermeyer, K.** 1963. Permeabilidad de los plásticos a los gases. *Revista de Plásticos Modernos* 82: 293-302.
- Mannapperuma, J.D., Zagory, D., Singh, R.P., Kader, A.A.** 1989. Design of polymeric packages for modified atmosphere storage of fresh produce. En: *International Controlled Atmosphere Research Conference, Fifth Proceedings Vol. 2 – Other Commodities and Storage Recommendations*, Wenatchee, EE.UU., p. 225-233.
- Mannapperuma, J.D., Singh, R.P.** 1994. Modeling of gas exchange in polymeric packages of fresh fruits and vegetables. En: *Process Optimization and Minimal Processing of Foods*. Singh, R.P., Oliveira, F.A.R. (eds.), CRC Press, Londres, Reino Unido, p. 437-445.

- Marlatt, R.B., Stewart, J.K.** 1956. Pink rib of head lettuce. *Plant Disease Reporter* 40(8): 742-743.
- Maroto, J.V.** 1983. Lechuga. En: *Horticultura Herbácea Especial*, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, p. 189-206.
- Maroto, J.V.** 1989. Técnicas de recolección y postrecolección en plantas hortícolas. *Agrícola Vergel*, septiembre 93: 470-478.
- Maroto, J.V., Gómez, A.M., Baixauli, C.** 2000. La Lechuga y la escarola. Patronato de Fundación Caja Rural de Valencia. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 242 p.
- Marth, E.H.** 1998. Extended shelf life of refrigerated foods: microbiological quality and safety. *Food Technology* 52(2): 57-62.
- Martínez, G., Romojaro, F., Pretel, M., Serrano, M., Martínez, C.** 1996. Atmósferas modificadas y sus aplicaciones. *Hortoinformación* 78: 46-50.
- Martínez, J.A., Artés, F.** 1999. Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested Iceberg lettuce. *Food Research International* 32: 621-627.
- Martínez, J.A., Artés, F.** 2002. Efectos de la prerrefrigeración y de diversos polímeros en la conservación de la lechuga Iceberg ciclo Astral. *3er Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones*, Sociedad Agronómica de Chile y Sociedad Chilena de Fruticultura. Abstract en: *Simiente* 72(3-4): 86.
- Martínez, J.A., Fernández, J.A., Carreño, S., González, A.** 2003. Bacteriosis de la inflorescencia de la coliflor: etiología, patogénesis y métodos de control. *Agrícola Vergel* 253: 18-28.
- Martínez, J.A., Artés, F.** 2005. Nuevo protocolo de medida de la permeabilidad de gases a través de membranas poliméricas. Aplicación a la técnica de envasado de productos hortofrutícolas en atmósfera modificada. En: *III Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios (IBEROLAB)*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España. CD-ROM.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Bailén, G., Guillén, F., Zapata, P.J., Valverde, J.M., Castillo, S., Fuentes, M., Valero, D.** 2008. The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 47: 54-60.
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Serrano, M., Valero, D.** 2009. Development of a carbon-heat hybrid ethylene scrubber for fresh horticultural produce storage purposes. *Postharvest Biology and Technology* 51: 200-205.
- Mastrocola, D., Severini, C., Lerici, C.R.** 1989. Colorimetric control of enzymatic browning in fruit and vegetables. En: *Engineering and Food (vol. 1). Physical*

- Properties and Process Control*. Spiess, W.E.L. Schubert, H. (eds.), Elsevier Applied Science, London, Reino Unido, p. 662-670.
- Mateos, M., Ke, D., Kader, A., Cantwell, M.** 1993. Differential responses of intact and minimally processed lettuce to carbon dioxide atmospheres. *Acta Horticulturae* 343: 171-174.
- Mattila, M., Ahvenainen, R., Hurme, E., Hyvönen, L.** 1993. Respiration rates of some minimally processed vegetables. En: *Systems and Operations for Post-harvest Quality. Post-harvest Treatments of Fruit and Vegetables*. De Baerdemaeker, J., McKenna, B., Janssens, M., Thompson, A., Artés Calero, F., Höhn, E., Somogyi, Z. (eds.). COST 94. Commission of the European Community, Bélgica, p. 135-145.
- McGlasson, W.B.** 1989. MA packaging a practical alternative to CA shipping containers. En: *V International Controlled Atmosphere Research Conference (vol 2). Other Commodities and Storage Recommendations*, Wenatchee, EE.UU., p. 235-240.
- McGlasson, W.B.** 1990. Role of postharvest technology in the marketing of horticultural produce. *Food Australia* 42(4): 184-186.
- McGlasson, W.B.** 1992. Modified atmosphere packaging. Matching physical requirements with physiology of produce. *Food Australia* 44(4): 168-170.
- McGuire, R.G.** 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27(12): 1254-1255.
- Mermelstein, N.H.** 1979. Hypobaric transport and storage of fresh meats and produce earns. *Food Technology* July: 32-40.
- Messiaen, C.M., Blancard, D., Rouxel, F., Lafon, R.** 1995. Enfermedades de las hortalizas. Mundi-Prensa, Madrid, España, 576 p.
- Misaghi, I.J.** 1992. Prevention of tipburn in Iceberg lettuce during postharvest storage. *Plant Disease* 76: 1169-1171.
- Mitcham, B., Cantwell, M., Kader, A.A.** 1996. Methods for determining quality of fresh commodities. *Perishables Handling Newsletter* 85: 1-5.
- Mitchell, F.G., Guillou, R., Parsons, R.A.** 1972. Commercial cooling of fruits and vegetables. California Agricultural Experiment Station Extension Service Manual 43, EE.UU. 44 p.
- Molina, E., Varó, P., Gómez, C.** 1988. Lechuga Iceberg (ciclo septiembre-noviembre). Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca de Murcia. Servicio de Extensión Agraria, Murcia, España, 11 p.
- Molina, E.** 1990. Lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Agrícola Vergel* 9(100): 327-330.

- Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E., Francés, J., Alemany, J., Llorente, I., Moragrega, C.** 2002. Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. *International Microbiology* 5: 169-175.
- Moras, P., Chapon, J.F.** 1983. Entreposage et conservation des fruits et légumes frais. CTIFL, Paris, Francia, 243 p.
- Morris, L.L., Klaustermeyer, J.A., Kader, A.A.** 1974. Postharvest requirements of lettuce to control physiological disorders. En: *Proceedings of the 26th International Conference of Handling Perishables Agronomical Commodities*. Michigan State University, Michigan, EE.UU.
- Morris, L.L., Kader, A.A.** 1977. Commodity requirements and recommendations for transport and storage-selected vegetables. *Horticultural Report* 28: 266-275.
- Moyls, L., Hocking, R., Beveridge, T., Timbers, G.** 1992. Exponential decay method for determining gas transmission rate of films. *Transactions of the ASAE* 35(4): 1259-1265.
- Müller, G.** 1981. Microbiología de los alimentos vegetales. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 291 p.
- Namesny, A.** 1993. Lechuga. En: *Post-Recolección de Hortalizas. Vol. 1, Hortaliza de Hoja, Tallo y Flor*. Ediciones de Horticultura, S.L., Reus, España, p. 161-194.
- Newman, C.** 2004. ¿Por qué están tan gordos en Estados Unidos? *National Geographic España* 15(2): 50-63.
- Nicolás, J., Cheynier, V., Fleuriet, A., Rouet-Mayer, M.A.** 1993. Polyphenols and enzymatic browning. En: *Polyphenolic Phenomena*. Scalbert, A. (ed.), *Institut National de la Recherche Agronomique*, INRA, Paris, Francia, p. 165-175.
- Noval, C., Castro, S.** 1987. Bacteriosis de plantas hortícolas. *Hojas Divulgadoras N° 4/87 HD*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España, 28 p.
- Nwufo, M.I.** 1994. Effects of water stress on the post-harvest quality of two leafy vegetables, *Telfairia occidentalis* and *Pterocarpus soyauxii* during storage. *Journal of the Science and Food Agriculture* 64: 265-269.
- O'Beirne, D.** 1987. Concept and benefits of modified atmosphere packaging. *Food Ireland* 3: 43-45.
- Pala, M., Damarli, E.** 1994. Impact of modified atmosphere packaging technology: Present and future. En: *The Post-Harvest Treatments of Fruit and Vegetables-Current Status and Future Prospects*. Woltering, E.J., Gorris, L.G., Jongen, W.M.F., McKenna, B., Höhn, E., Bertolini, P., Woolfe, M.L., de Jager, A., Ahvenainen, R., Artés Calero, F. (eds.), *Proceedings of the Sixth International Symposium of the European Concerted Action Program COST 94*, Oosterbeek, Holanda, p. 1-13.

- Pantástico, E.B.** 1975. Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. 2ª ed., CECOSA, Méjico, 663 p.
- Parsons, C. S., Gates, J. E., Spalding, D. H.** 1964. Quality of some fruits and vegetables after holding in nitrogen atmospheres. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 84: 549-556.
- Pegoraro, M., Severini, F., Gallo, R., Zanderighi, L.** 1995. Gas transport properties of siloxane polyurethanes. *Journal of Applied Polymer Science* 57: 421-429.
- Peppelenbos, H.W.** 1996. The use of gas exchange characteristics to optimize CA storage and MA packaging of fruits and vegetables. Wageningen Agricultural University. Wageningen, Holanda, Tesis Doctoral, 157 p.
- Pérez-Villarreal, B., Sarasua, M.** 1996. Normalización y caracterización de la lechuga. *Agrícola Vergel* 15(179): 632-635.
- Piergiovanni, L., Fava, P.** 1992. La solubilità dell'anidride carbonica nei prodotti confezionati in atmosfera modificata. Nota I: messa a punto e validazione di procedure per la misura. *Industrie Alimentari* 31(4): 297.
- Platenius, H.** 1942. Effect of temperature on the respiration rate and the respiratory quotient of some vegetables. *Plant Physiology* 17: 179-197.
- Pratella G.C., Brigati S.** 1989. Etiopathogenesis of russet spotting of lettuce. *Advances in Horticultural Science* 3: 112-114.
- Pretel, M.T., Serrano, M., Riquelme, F., Romojaro, F.** 1993. La calidad de la producción hortofrutícola. En: *Maduración y Postrecolección' 93. La calidad en frutos y hortalizas*. Albi, M.A., Gutiérrez, F., Roca, M. (eds.), Sevilla, España, p. 353-358.
- Reid, M.S.** 1985. Product maturation and maturity indices. En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Kader, A.A., (ed.). Coop. Ext. Univ. of California. Div. Agri. and Natural Sci. Special Publication No. 3311, California, EE.UU., p. 8-11.
- Riquelme, F.** 1995. Conservación de los productos de cuarta gama. *SECH. Boletín Informativo* VIII(2): 3-5.
- Risse, L.A.** 1989. Individual film wrapping of Florida fresh fruit and vegetables. *Acta Horticulturae* 258: 263-270.
- Ritenour, M.A., Ahrens, M.J., Salveit, M.E.** 1995. Effects of temperature on ethylene-induced phenylalanine ammonia lyase activity and russet spotting in harvested Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120(1): 84-87.
- Ritenour, M.A., Sutter, E.G., Williams, D.M., Saltveit, M.E.** 1996. Indole-3-acetic acid (IAA) content and axillary bud development in relation to russet spotting in

- harvested Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121(3): 543-547.
- Rodríguez, M.** 1994. Envasado bajo atmósfera protectora. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 13(1): 43-49.
- Romero, F., Riquelme, F., Pretel, M., Martínez, G., Serrano, M., Martínez, C., Lozano, P., Segura, P., Luna, P.A.** 1996. Conservación de frutas y hortalizas en atmósferas modificadas. En: *Nuevas Tecnologías de Conservación de Frutas y Hortalizas: Atmósferas Modificadas*. Zapata, M., Segura, P. (eds.), Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, p. 65-88.
- Rood, P.** 1956. Relation of ethylene and post-harvest temperature to brown spot of lettuce. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 68: 296-303.
- Rose, S.A.** 1990. Hazard analysis and safety control of MAP chilled perishable foods. En: *International Conference on Modified Atmosphere Packaging*. Stratford – upon – Aron. Campden Food & Drink Research Association. Reino Unido, 12 p.
- Ryall, A.L., Lipton, W.J.** 1979. Handling, Transportation and Storage of Fruits and Vegetables. Vol. I. Vegetables and Melons, 2ª edición, Avi Publishing Company, Westport, CT., EE.UU., 588 p.
- Ryder, E.J.** 1979a. Leafy Salad Vegetables. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, EE.UU., 266 p.
- Ryder, E. J.** 1979b. ‘Salinas’ lettuce. *HortScience* 14: 283-284.
- Sainsbury, G.F.** 1961. The effect of package characteristics on the cooling and preservation of perishable foods. En: *Symposium on Standardization of Packaging for Fresh Fruits and Vegetables*. Institute for Research on Storage and Processing of Horticultural Produce, Wageningen, Holanda, p. 109-113.
- Saltveit, M.E.** 1982. Procedures for extracting and analyzing internal gas samples from plant tissues by gas chromatography. *HortScience* 17: 878-881.
- Saltveit, M.E., Ke, D., Kasmire, R.F.** 1985. Reducing russet spotting in Iceberg lettuce, California Iceberg Lettuce Research Program Annual Report, California, EE.UU., p. 41-46.
- Saltveit, M.E.** 1993. Sampling and analysis of gases. Laboratorio 3. Course of Postharvest Horticulturist. University of California, California, EE.UU., 27 p.
- Salunkhe, D.K., Desai, B.B.** 1984. Postharvest Biotechnology of Vegetables (vol. II). Boca Raton, Florida, EE.UU., CRC Press, Inc., 184 p.
- Salunkhe, D.K., Bolin, H.R., Reddy, N.R.** 1991. Enzymic browning. En: *Storage, Processing, and Nutritional Quality of Fruits and Vegetables (vol. II). Processed Fruits and Vegetables*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, EE.UU., p. 249-256.

- Sancho, J.** 1958. Los plásticos solucionan problemas a la agricultura. *Revista de Plásticos* 54: 380-383.
- Sapers, G.M.** 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. *Food Technology* October: 75-84.
- Sastry, S.K., Baird, C.D., Buffington, D.E.** 1978. Transpiration rates of certain fruits and vegetables. En: *ASHRAE Transactions. Technical Papers and Symposium Papers 1978 Meeting Vol. 84, Part. 1.* American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., Atlanta, G.A., EE.UU., p. 237-255.
- Segurajauregui, J., Thorne, S.** 1981. The effect of temperature on the deterioration of stored agricultural produce. En: *Developments in Food Preservation-1.* Thorne, S. (ed.), Applied Science Publishers, Ltd., London, Reino Unido, p. 215-237.
- Sekse, L.** 1988. Respiration of plum (*Prunus domestica* L.) and sweet cherry (*P. avium* L.) fruits during growth and ripening. *Acta Agriculture of Scandinavia* 38: 317-320.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D.** 2006. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology* 39: 61-68.
- Shapiro, A.** 1985. Life for fresh vegetables & fruits in commercial storage. Recommended temperature, relative humidity & approximate storage. Tablas informativas. Carmel, Israel, 3 p.
- Sharples, G.C., Fazio, S., Bessey, P.M.** 1963. Oxidase activity and rib discoloration in great lakes lettuce in relation to seasonal temperature. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 82: 391-396.
- Sharples, G.C.** 1964. Polyphenol content of head lettuce. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 84: 356-363.
- Shewfelt, R.L.** 1986. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Technology* 40: 70-76.
- Siriphanich, J., Kader, A.A.** 1985. Effects of CO₂ on total phenolics, phenylalanine ammonia lyase, and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110(2): 249-253.
- Siriphanich, J., Kader, A.A.** 1986. Changes in cytoplasmic and vacuolar pH in harvested lettuce tissue as influenced by CO₂. *Journal of American Society for Horticultural Science* 111: 73.
- Smith, S., Geeson, J., Stow, J.** 1987. Production of modified atmospheres in deciduous fruits by the use of films and coatings. *HortScience* 22(5): 772-776.
- Snowdon, A.L.** 1991. A colour Atlas of Post-harvest Diseases & Disorders of Fruits & Vegetables (vol. 2): Vegetables, Wolfe Scientific Ltd., London, Reino Unido, 416 p.

- Solomos, T.** 1994. Some biological and physical principles underlying modified atmosphere packaging. En: *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Wiley, R.C. (ed.), Chapman & Hall, New York, EE.UU., p. 183-225.
- Sperling, L.H.** 1992. Diffusion and permeability in polymers. En: *Introduction to Physical Polymer Science*, John Wiley & Sons, Inc., New York, EE.UU., p. 146-151.
- Stanley, R.** 1989. The influence of temperature and packaging material on the postharvest quality of Iceberg lettuce. *Acta Horticulturae* 244: 171-180.
- Stewart, J.K., Uota, M.** 1971. Carbon dioxide injury and market quality of lettuce held in controlled atmospheres. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 96(1): 27-30.
- Stewart, J.K., Matoba, F.** 1972. Some factors influencing the susceptibility of lettuce to CO₂ injury. *Plant Disease Reporter* 56: 1051.
- Stewart, J.K.** 1973. Lettuce brown stain-Cause and cure. *Western Grower and Shipper* 44(11): 58-88.
- Stewart, J.K., Uota, M.** 1976. Postharvest effect of modified levels of carbon monoxide, carbon dioxide, and oxygen on disorders and appearance of head lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 101: 382-384.
- Stewart, J.K., Aharoni, Y., Hartsell, L., Young, D.K.** 1980. Symptoms of acetaldehyde injury of head lettuce. *HortScience* 15(2): 148-149.
- Stewart, R.F., Mohr, J.M., Budd, E.A., Phan, L.X., Arul, J.** 1993. Temperature-compensating films for modified atmosphere packaging of fresh produce. En: *Polymeric Delivery Systems. Properties and Applications*. El-Nokaly, M., Piatt, D.M., Charpentier, B.A. (eds.), *American Chemical Society*, Washington, D.C., EE.UU., p. 232-243.
- Stocker, J.H.J.** 1963. Measurement of gas permeability of package film. En: *Evaluation of Package Performance*. Harrison, V.G.W. (ed.), Printing, Packaging & Allied Trades Research Association. *Proceedings of the Patra Packaging Conference*, Wadhan College, Oxford, Reino Unido, p. 179-204.
- Swinburne, T.R.** 1983. Quiescent infections in post-harvest diseases. En: *Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables*. Dennis, C. (ed.), Academic Press, London, Reino Unido, p. 1-21.
- Talasila, P.C., Chau, K.V., Brecht, J.K.** 1992. Effects of gas concentrations and temperature on O₂ consumption of strawberries. *Transactions of the ASAE* 35(1): 221-224.
- Taylor, A.A., Karel, M., Proctor, B.E.** 1960. Measurement of oxygen permeability. *Modern Packaging* 33(10): 131.

- Tesi, R.** 1987. Principi di orticoltura e ortaggi d'Italia. Ed. Edagricole, Bologna, Italia, 340 p.
- Thorne, S., Meffert, H.F.T.** 1979. The storage life of fruits and vegetables. *Journal of Food Quality* 2(2): 105-112.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Castañer, M., Artés, F., Saltveit, M.E.** 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 583-589.
- Tomkins, R.G.** 1967. Assessing suitability of plastic films for prepackaging fruit and vegetables. *Food Manufacture* 42: 34-38.
- Tonini, G., Cessari, A.** 1969. La conservazione e la distribuzione degli ortaggi. En: *Guida alla Frigoconservazione dei Prodotti Ortoflorofruttili*. Goidanich, G. (ed.), Ed. Edagricole, Bologna, Italia, 217 p.
- Torres, J.A.** 1996. Formulation and characterization of edible coatings. En: *Le Froid et la Qualité des Légumes Frais. Refrigeration and the Quality of Fresh Vegetables*, International Institute of Refrigeration, Paris, Francia, p. 280-282.
- Vidal, C., Carreres, J.E., Serra, M., Palomares, G.** 1995. Incidencia de la época de siembra en la calidad de lechugas en atmósfera modificada. En: *VI Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas*. Barcelona, España, 329 p.
- Wagner, B.F., Vaylen, N.E.** 1990. Getting to know the packaging activists: a comprehensive view of absorbers, scavengers, getters and emitters, and their kin for food preservation. En: *Proceedings of the Fifth International Conference on Controlled/Modified Atmosphere/Vacuum Packaging. CAP 90*, Schotland Business Research, Inc., San Jose, California, EE.UU., p. 81-93.
- Wang, C.Y., Hinsch, R.T., Kindya, W.G.** 1984. Effect of different perforations in polyethylene films on quality of head lettuce after transcontinental shipment. *HortScience* 19: 584-586.
- Wang, Y., Easteal, A.J., Chen, X.D.** 1998. Ethylene and oxygen permeability through polyethylene packaging films. *Packaging Technology Science* 11: 169.
- Watada, A.E., Morris, L.L., Rappaport, L.** 1964. Modified atmosphere effects on lettuce. En: *Fruit and Vegetable Perishables Handling Conference. Proceedings University of California*. Univ. of California, Division of Agricultural Sciences, Davis, EE.UU., p. 82-85.
- Watada, A.E.** 1989. Nondestructive methods of evaluating quality of fresh fruits and vegetables. *Acta Horticulturae* 258: 321-329.
- Watada, A., Abe, K., Yamuchi, N.** 1990. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology* 44(5): 116-122.

- Weng, Y.-M., Chen, M.-J.** 1997. Sorbic anhydride as antimycotic additive in polyethylene food packaging films. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 30: 485-487.
- Wills, R.H.H., Lee, T.H., McGlasson, W.B., Hall, E.G., Graham, D.** 1984. Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas post-recolección. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 195 p.
- Wolfe, S.K.** 1980. Use of CO and CO₂-enriched atmospheres for meats, fish, and produce. *Food Technology* 34(3): 55-58.
- Wong, D.W.S., Gregorski, K.S., Hudson, J.S., Pavlath, A.E.** 1996. Calcium alginate films: Thermal properties and permeability to sorbate and ascorbate. *Journal of Food Science* 61(2): 337-341.
- Yahia, E. M., Rivera, M.** 1992. Modified atmosphere packaging of muskmelon. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 25: 38-42.
- Yamaguchi, M.** 1985. Composites. Lettuce (*Lactuca sativa*). En: *World Vegetables. Principles, Production and Nutritive Values*. The Avi Publishing Company, Inc., Connecticut, EE.UU., p. 207.
- Yang, S.F., Pratt, H.K.** 1978. The physiology of ethylene in wounded plant tissues. En: *Biochemistry of Wounded Plant Tissues*. Kahl, G. (ed.). Walter de Gruyter and Co., Berlin, Alemania, p. 595-622.
- Yavuzdogan, B., Damarly, E., Emir, F.** 1998. Determination of equilibrium gas content of grated carrots packed under modified atmosphere and optimization of critical parameters. En: *Proceedings of the COST 915-Copernicus*. Nicolai, B., De Baerdemaeker, J. (eds.), CIPA-CT94-0120 workshop on Food Quality Modelling, Leuven, Bélgica, p. 245-252.
- Zagory, D., Kader, A.A.** 1988. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technology* September: 70-77.
- Zagory, D., Kader, A.A.** 1989. Quality maintenance in fresh fruits and vegetables by controlled atmospheres. En: *Quality factors of fruits and vegetables. Chemistry and technology*. Jen, J.J. (ed.), American Chemical Society, Washington, D.C., p. 174-188.
- Zagory, D.** 1997. Advances in modified atmosphere packaging (MAP) of fresh produce. *Perishables Handling Newsletter* 90: 2-4.