



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA**

**EFFECTO DE BIOPOLÍMERO EN LA VIDA ÚTIL DE
MEZCLAS DE HORTALIZAS MÍNIMAMENTE
PROCESADAS ENVASADAS EN ATMÓSFERA
MODIFICADA**

Susana Ríos Echavarría

Universidad de Antioquia

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Departamento de Alimentos

Medellín, Colombia

2019

Efecto de biopolímero en la vida útil de mezclas de Hortalizas Mínimamente Procesadas
envasadas en atmósfera modificada

Susana Ríos Echavarría

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias: Alimentos

Asesora:

Zoraida Cañas Ángel

MSc. Ciencia y Tecnología en Alimentos

Línea de Investigación:

Correlación de información microbiológica, fisicoquímica, instrumental y sensorial

Grupo de Investigación:

Análisis Sensorial

Universidad de Antioquia

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Departamento de Alimentos

Medellín, Colombia

2019

Aquellas personas cercanas que tienen la paciencia suficiente para acompañar nuestros caminos a nuestros ritmos, son la fuente de energía para continuar, y se quedan en el corazón para ofrecernos lecciones de crecimiento personal.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	4
LISTA DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN	- 1 -
1.1 Planteamiento de problema	- 3 -
1.2 Objetivos	- 10 -
1.2.1 Objetivo general	- 10 -
1.2.2. Objetivos específicos.....	- 10 -
2. MARCO TEÓRICO.....	- 11 -
3. METODOLOGÍA	- 22 -
3.1. Materiales y métodos	- 22 -
3.1.1. Procedencia de las hortalizas.....	- 22 -
3.1.2. Acondicionamiento de las hortalizas.....	- 22 -
3.1.3. Determinación de las características sensoriales, medición de la actividad respiratoria y cálculo de la tasa de respiración	- 23 -
3.1.4. Establecimiento de la proporción de gases para cada mezcla de hortalizas	- 25 -
3.1.5. Estudio de estabilidad.....	- 26 -
3.1.6. Estimación de vida útil sensorial.....	- 27 -
3.1.7. Análisis por cromatografía de gases.....	- 29 -
4. RESULTADOS - ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	- 30 -
4.1. Características sensoriales hortalizas	- 30 -
4.2. Actividad respiratoria hortalizas	- 33 -
4.3. Tasa de Respiración y ajuste Michaelis Menten	- 43 -
4.4 Proporción de gases para cada mezcla de hortalizas.....	- 53 -

4.5. Estudio de estabilidad.....	- 56 -
4.5.1. Resultados microbiológicos.....	- 57 -
4.5.2. Resultados fisicoquímicos	- 60 -
4.5.2. Resultados sensoriales	- 70 -
4.6. Estimación vida útil sensorial	- 86 -
4.7. Análisis por cromatografía de gases.....	- 89 -
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	- 93 -
6. REFERENCIAS.....	- 95 -

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Estudios recientes sobre conservación de alimentos mínimamente procesados o IV gama. Tabla elaborada por la autora Susana Ríos Echavarría. 2017.....	- 7 -
Tabla 2 Estudio estadístico Proexport-Sippo. Fuente 39. 2015.....	- 12 -
Tabla 3 Recomendaciones de almacenamiento en atmósfera modificada para frutas y vegetales frescas cortadas. Fuente: (18). 2015.	- 15 -
Tabla 4 Cociente respiratorio de las nueve hortalizas estudiadas, el cual indica el sustrato utilizado para llevar a cabo el proceso de respiración; donde: Carbohidratos = 1; lípidos menor a 1, ácidos orgánicos mayor a 1.	- 50 -
Tabla 5 Resultados de caracterización de los materiales a usar en estudio de estabilidad. Los valores corresponden a dos mediciones.....	- 56 -
Tabla 6 Correlación de la frescura con algunos descriptores sensoriales evaluados	- 85 -
Tabla 7 Porcentaje de rechazo Vs tiempo de almacenamiento en días.....	- 87 -

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ventas de alimentos procesados en Colombia (2009-2019). Fuente: (4). 2016.....	- 4 -
Figura 2: Producción, importaciones, exportaciones y consumo aparente de hortalizas procesadas en toneladas. Fuente (10). 2013.....	- 6 -
Figura 3 Niveles de agregación de valor según el proceso aplicado. (Fuente10). 2013.....	- 14 -
Figura 4 Vista gráfica del fenómeno continuo de envasado bajo atmósfera modificada de productos frescos. Fuente: (37). 2016.....	- 15 -
Figura 5 Ficha técnica sensorial de las hortalizas evaluadas	- 30 -
Figura 6 Concentraciones (%) de oxígeno y dióxido de carbono de nueve hortalizas (6a, 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, 6g, 6h, 6i) en el tiempo, a 3 ± 1 °C y 95% humedad relativa. Cada punto en las gráficas corresponde al promedio de tres mediciones.....	- 41 -
Figura 7 Tasa de respiración de las nueve hortalizas (7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f, 7g, 7h, 7i), en función del dióxido de carbono a 3 ± 1 °C y 95% humedad relativa y ajuste al modelo cinético enzimático de Michaelis-Menten.	- 47 -
Figura 8 Concentraciones (%) de oxígeno y dióxido de carbono en equilibrio en el tiempo, para las cuatro mezclas de hortalizas mínimamente procesadas (8a, 8b, 8c, 8d), envasadas en el biopolímero comercial (Natureflex™ NKA).....	- 54 -
Figura 9 Resultados microbiológicos inicial, intermedio y final de NMP Coliformes totales/g Vs tiempo (días).	- 58 -
Figura 10 a) Mezcla A. utilizando como material de envase BOPP. b) Mezcla A, utilizando como material de envase biopolímero comercial (Natureflex™ NKA).....	- 59 -
Figura 11 Variación del pH en el tiempo en cada mezcla de hortalizas evaluada, en Biopolímero y en BOPP. Cada punto corresponde al promedio de tres mediciones. Se incluyen barras de error en las gráficas.	- 61 -
Figura 12 Variación de la concentración de CO ₂ en el tiempo (días), en Biopolímero y BOPP de cada mezcla de hortalizas evaluada.	- 64 -

Figura 13 Variación de la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el tiempo, en biopolímero y BOPP de cada mezcla evaluada. Cada punto de la gráfica corresponde a tres mediciones.	- 68 -
Figura 14 Gráfico de medias, variación del puntaje global en el tiempo en biopolímero, de cada mezcla evaluada.	- 71 -
Figura 15 Variación del olor herbal en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada	- 74 -
Figura 16 Variación del olor vegetal en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.	- 76 -
Figura 17 Variación del sabor amargo en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.	- 79 -
Figura 18 Variación de la firmeza en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada	- 82 -
Figura 19 Variación de la frescura en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.	- 84 -
Figura 20 Aceptabilidad vs frescura. Extrapolación al punto de corte.	- 86 -
Figura 21 Porcentaje de rechazo vs tiempo de almacenamiento.	- 87 -
Figura 22 Cromatograma al inicio del almacenamiento para la Mezcla A (lechuga romana, kale y tomate cherry)	- 89 -
Figura 23 Cromatograma al cabo de 10 días de almacenamiento para la mezcla A (lechuga romana, kale y tomate cherry)	- 89 -

GLOSARIO

Agroecología: La agroecología es una disciplina que provee los principios ecológicos básicos para estudiar, diseñar y manejar agroecosistemas que sean productivos y conservadores de los recursos naturales, y que también sean culturalmente sensibles, socialmente justos y económicamente viables.

Atmósfera modificada: La atmósfera modificada es una técnica para modificar la atmósfera dentro del envase, proporcionando una remoción de aire desde el interior, y reemplazándolo por una mezcla de gases, para reducir el deterioro de la calidad y mejorar la vida útil. La mezcla de gases usada depende del tipo de producto. La atmósfera gaseosa cambia continuamente a través del periodo de almacenamiento, debido a factores tales como la respiración del producto, cambios bioquímicos y la permeabilidad del material de envase

Cinética enzimática Michaelis Menten: La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas. Leonor Michaelis y Maud Menten, propusieron en 1913, una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de las enzimas.

Cociente respiratorio: Es una magnitud fisiológica que da un primer indicador cualitativo sobre la naturaleza de las combustiones respiratorias. Se define QR como la relación entre la cantidad de CO₂ producido y la cantidad de O₂ absorbido en un tiempo dado, por una misma masa de materia respirante. El valor teórico del QR varía según la naturaleza del metabolito utilizado en la combustión respiratoria

Equilibrio atmosférico: En sistemas de envasado de alimentos, situación que se logra cuando por la interacción entre la respiración del producto, la permeabilidad del polímero y la atmósfera externa (modificación pasiva) aunque se puede acelerar, creando un vacío parcial e inyectando en el envase una mezcla de gases (modificación activa), para sustituir el aire del espacio de cabeza, antes del cierre hermético.

Estudio de estabilidad: Comprende una serie de análisis físicos, químicos, instrumentales, microbiológicos y sensoriales, con los que se determinan el tiempo de vida útil del alimento.

Fenilalanina Amonio Liasa: La PAL o fenilalanina amonio liasa, es la enzima que, al catalizar la primera reacción de la ruta fenilpropanoide, se ha encontrado que puede regular la generación de los diferentes metabolitos obtenidos por esta vía biosintética y ha sido relacionada, por ello, con mecanismos de defensa que se activan en otros modelos

Ficha técnica sensorial: Descripción detallada de un producto a nivel sensorial, la cual es construida por un panel de jueces, bien sea, expertos o entrenados, y que presenta de manera ordenada y concisa, información sobre todos los descriptores del producto.

Furanos: El furano y los metilfuranos, pueden estar presentes en los alimentos como contaminantes de proceso, dado que se forman de manera natural durante el tratamiento de los alimentos con calor. Se produce en una gran variedad de alimentos, tales como café, conservas y alimentos envasados, incluyendo alimentos para bebés que contienen carne y varias verduras. Los furanos se forman a partir de una variedad de sustancias naturalmente presentes en los alimentos, incluyendo la vitamina C, los carbohidratos, los aminoácidos, los ácidos grasos insaturados y los carotenoides. Las condiciones de cocción / procesamiento ayudan a determinar la cantidad de furanos que se forman y se pierden (principalmente a través de la evaporación) y cuánto está presente cuando se consume el alimento.

Lipoxigenasa: Es una enzima perteneciente al grupo de las *oxidoreductasas* que presenta un átomo de hierro situado en su centro activo. Fue una de las primeras enzimas en ser cristalizadas y se encuentra tanto en mamíferos como en plantas, relacionándose con los procesos de senescencia, germinación de semillas, cicatrización de heridas, formación de tubérculos, defensa ante el ataque de patógenos, etc.

Mínimamente procesados: Las hortalizas mínimamente procesadas son productos modificados físicamente para obtener alimentos listos para el consumo, preparadas mediante operaciones unitarias tales como pelado, troceado, lavado, rebanado, mantenidas en refrigeración, y sometidas a tratamientos parciales de conservación que incluyen, control de pH, antioxidantes, inmersión en soluciones desinfectantes o una combinación de estos tratamientos.

Punto de corte: Es la combinación de resultados obtenidos de paneles de expertos y también la repuesta de los consumidores, en una prueba sensorial, para determinar la calidad de un producto.

Respiración vegetal: Las frutas y hortalizas frescas necesitan respirar a fin de obtener la energía suficiente para la mantención de la vida. Respiran absorbiendo oxígeno de la atmósfera y liberando dióxido de carbono, tal como lo hacen el hombre, los animales y otros organismos. Durante la respiración la producción de energía proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos.

Terpenos: Los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en la estructura de membranas).

Transición Nutricional: La Transición Alimentaria Nutricional se refiere a los cambios que ocurren al aumentar los ingresos de una familia, comunidad o población: sustitución de la dieta rural, "tradicional" por una dieta moderna, opulenta, "occidental" (alta en grasas – en especial saturadas- azúcares, alimentos procesados y proteínas de origen animal y baja en fibras y carbohidratos complejos). No se trata de un simple cambio alimentario, es un proceso multifactorial de cambios socioculturales, económicos y de comportamiento individual.

Vida útil: La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales. La finalización de la vida útil de alimentos puede deberse a que el consumo implique un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado. En este último caso la evaluación sensorial es el principal método de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que reemplacen adecuadamente a nuestros sentidos.

RESUMEN

Vegetales mínimamente procesados son una alternativa para el consumidor actual; sin embargo, tienen una corta vida útil debido a su fisiología, procedencia y metabolismo. Este proyecto evalúa el efecto de un biopolímero (Natureflex™ NKA, a base de pulpa de madera), en la vida útil de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, envasadas en atmósfera modificada. Nueve hortalizas orgánicas fueron lavadas, desinfectadas y mínimamente procesadas. Se midió la actividad respiratoria de cada una de ellas, expresada en concentración (%) de oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2), y se calculó la tasa de respiración máxima, velocidades máximas de respiración, constantes de Michaelis-Menten para el consumo de Oxígeno y producción de Dióxido de carbono, y las constantes de inhibición utilizando el modelo de Michaelis-Menten. Los datos experimentales y su ajuste a este modelo fueron graficados. El comportamiento en tasa de respiración y el ajuste al modelo, coinciden con otros estudios realizados. Se fijaron cuatro mezclas de hortalizas: Mezcla A. lechuga romana, kale, tomate cherry. Mezcla B. Repollo, rúgula, zanahoria, lechuga crespa. Mezcla C. Lechuga crespa, zanahoria, tomate cherry, espinaca. Mezcla D. Lechuga romana, kale, remolacha, zanahoria, tomate cherry. Utilizando un sistema de ecuaciones diferenciales, y las permeabilidades de un biopolímero comercial, se calcularon las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono en equilibrio para cada mezcla; que oscilaron entre 12,0-13,0% de O_2 y 3,0 - 4,0% de CO_2 para todas las mezclas, a excepción de la mezcla B, la cual presentó una mezcla de gases muy cercana a las condiciones atmosféricas: 18,0 - 19,0% O_2 y 1,0 - 1,5% CO_2 . Se realizó confirmación de estos resultados con un estudio de estabilidad, aplicando la atmósfera de gases hallada; donde se encontró que la vía de deterioro fue sensorial, el parámetro crítico: frescura, el límite crítico fueron 6 puntos en una escala estructurada de 0 a 10. La mezcla A mantuvo su estabilidad hasta el día 10 de almacenamiento; la mezcla D hasta el día 9; la mezcla C, 8 días y la mezcla B, 7 días. Todos los experimentos se realizaron también con Polipropileno Biorientado (BOPP). Se usó un diseño experimental multifactorial categórico para analizar los resultados. Todas las variables respuesta presentaron diferencias significativas respecto al factor material de envase. El sabor amargo obtuvo puntajes mayores en BOPP que en biopolímero. El olor vegetal y el olor herbal tuvieron mayores puntajes en el biopolímero que en el BOPP. Se realizó un análisis multivariado, el cual arrojó que la frescura fue el descriptor que se correlacionó con la mayor cantidad de descriptores evaluados. Se realizó un estudio de vida útil

sensorial a la mezcla con mayor tiempo de estabilidad (Mezcla A). El estudio arrojó un punto de corte (COP) de 8,30. Se encontró en esta mezcla, por medio de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas GC/MS, la presencia de 3-Methyl Furano y cloroformo, 3-thujene y m-mentha- 6,8 diene; como compuestos volátiles terpénicos asociados al olor herbal, y el Dimethyl sulfide y Disulfide dimethyl que fueron asociados al crecimiento de microorganismos al final del almacenamiento.

Palabras clave: Tasa de respiración, modelo matemático, estabilidad, parámetro crítico, vida útil sensorial.

ABSTRACT

Minimally processed vegetables are an alternative for the current consumer; however, they have a short lifespan due to their physiology, provenance and metabolism. This project evaluates the effect of a biopolymer (Natureflex™ NKA, based on wood pulp), on the shelf life of mixtures of minimally processed vegetables, packed in a modified atmosphere. Nine organic vegetables were washed, disinfected and minimally processed. The respiratory activity of each of them was measured, expressed in concentration (%) of oxygen (O₂) and carbon dioxide (CO₂), and the maximum respiration rate, maximum respiration velocities, Michaelis-Menten constants were calculated for Oxygen consumption and carbon dioxide production, and inhibition constants using the Michaelis-Menten model. The experimental data and their adjustment to this model were plotted. The behavior in respiration rate and the adjustment to the model, coincide with other studies carried out. Four mixtures of vegetables were fixed: Mix A. Romaine lettuce, kale, cherry tomato. Mix B. Cabbage, rucula, carrot, crispy lettuce. Mix C. Crispy lettuce, carrot, cherry tomato, spinach. Mix D. Romaine lettuce, kale, beet, carrot, cherry tomato. Using a system of differential equations, and the permeabilities of a commercial biopolymer, the concentrations of oxygen and carbon dioxide in equilibrium were calculated for each mixture; which oscillated between 12.0-13.0% of O₂ and 3.0-4.0% of CO₂ for all the mixtures, with the exception of mixture B, which presented a mixture of gases very close to atmospheric conditions: 18.0 - 19.0% O₂ and 1.0 - 1.5% CO₂. Confirmation of these results was made with a stability study, applying the gas atmosphere found; where it was found that the path of deterioration was sensory, the critical parameter: freshness, the critical limit were 6 points on a structured scale from 0 to 10. Mix A maintained its stability until day 10 of storage; mix D until day 9; mixture C, 8 days and mixture B, 7 days. All experiments were also performed with Bioriented Polypropylene (BOPP). A categorical multifactorial experimental design was used to analyze the results. All the response variables presented significant differences with respect to the material packaging factor. The bitter taste obtained higher scores in BOPP than in biopolymer. The vegetable smell and the herbal smell had higher scores in the biopolymer than in the BOPP. A multivariate analysis was performed, which showed that freshness was the descriptor that correlated with the greatest number of descriptors evaluated. A study of sensory shelf life was carried out on the mixture with the longest

stability time (Mixture A). The study showed a cutoff point (COP) of 8.30. In this mixture, by means of Gas Chromatography coupled to GC / MS Mass Spectrometry, the presence of 3-Methyl Furan and chloroform, 3-thujene and m-mentha- 6.8 was found; as volatile terpenic compounds associated with herbal odor, and Dimethyl sulfide and Disulfide dimethyl that were associated with the growth of microorganisms at the end of storage.

Keywords: Breathing rate, mathematical model, stability, critical parameter, sensory life.

INTRODUCCIÓN

Las hortalizas mínimamente procesadas son productos modificados físicamente para obtener alimentos listos para el consumo, preparadas mediante operaciones unitarias tales como pelado, troceado, lavado, rebanado, mantenidas en refrigeración, y sometidas a tratamientos parciales de conservación que incluyen, control de pH, antioxidantes, inmersión en soluciones desinfectantes o una combinación de estos tratamientos^{1,2}

El propósito de los alimentos mínimamente procesados es proporcionar al consumidor un producto hortícola muy parecido al fresco, con una vida útil prolongada, manteniendo una sólida calidad nutritiva y sensorial, garantizando la seguridad de los mismos ³. Sin embargo, el mayor problema de la comercialización de productos mínimamente procesados radica en su conservación, debido a los daños físicos ocurridos en los tejidos vegetales durante el proceso; estos daños aceleran el proceso metabólico, provocando deterioro de las características sensoriales, pérdida de nutrientes y desarrollo de microorganismos que afectan directamente la calidad y acortan la vida útil del producto. Para evitar lo anterior, es vital contar con un sistema de envasado adecuado, que garantice la conservación del producto y a su vez mantenga el valor nutritivo e inocuo intacto. La generación de una atmósfera modificada dentro de un ambiente específico es uno de los mecanismos más estudiados y ampliamente utilizados como una tecnología de conservación para extender la vida útil de productos mínimamente procesados⁴. Esta tecnología tiene la necesidad de entender las dinámicas de interacción y el conocimiento integrado de las características fisiológicas del producto, condiciones ambientales y propiedades del material de envase⁵. Varios estudios reportan modelos aproximados para describir y predecir interacciones entre las características fisiológicas del producto, propiedades del material de envase ⁶, y las condiciones externas del ambiente, usando ecuaciones matemáticas para el diseño.

En 1988 Yang y Chinnan fueron pioneros en sugerir que los principios de cinética enzimática podrían ser apropiados para describir los procesos de respiración de los productos vegetales ⁷. En 1991, Lee y colaboradores, afirmaron que una ecuación tipo Michaelis-Menten resultaría útil para describir los procesos de respiración basados en la afirmación que realiza Yang ⁸. Lee, desarrolla

un modelo de respiración a partir del modelo de Michaelis-Menten basado en los principios de cinética enzimática para predecir las tasas de respiración de productos frescos como una función de las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono ⁹.

El material de envase es un factor vital para que el proceso de envasado en atmósfera modificada sea exitoso. Los polímeros derivados del petróleo utilizados en la conservación de este tipo de alimentos como el polipropileno (PP), el polietileno de baja densidad (PEBD) y el poli vinil cloruro (PVC), aunque reúnen unas excelentes condiciones de protección, disponibilidad, bajo costo y muy buenas propiedades de maquinabilidad; no son totalmente biodegradables y generan serios problemas desde el punto de vista ecológico ¹⁰. Normalmente los polímeros convencionales están compuestos de otros químicos como aditivos, plastificantes, estabilizantes, colorantes; entre otras sustancias, que son indispensables para la procesabilidad del material, por esta razón, emplear un polímero utilizando 100% recursos renovables es un reto, y la tendencia mundial es utilizar cada vez más una alta proporción de recursos renovables posibles.

Actualmente, los estudios vinculados a los biopolímeros se centran en sus propiedades mecánicas y propiedades de barrera, pues éste es aún un punto débil de estos materiales; sin embargo, recientes investigaciones comprueban que algunos biopolímeros tienen una gran versatilidad para soportar procesos de moldeo, manteniendo unas buenas características mecánicas y propiedades de barrera. Las propiedades de envases rígidos de PLA (Ácido Poliláctico) fueron reportados al ser comparados con los de PET (Polietileno Tereftalato) y PS (poliestireno). El PLA entonces, puede tener un potencial competitivo con los plásticos sintéticos, no solo por su maquinabilidad, sino por la inocuidad que provee al alimento en términos de migración de sustancias. Si bien es cierto que MERCOSUR (Mercados Unidos del Sur) y otras entidades como el INVIMA (Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Colombia), instauran normativas para asegurar límites permisibles de migración desde el material de envase hacia el alimento ^{11 12}, los compuestos que migran desde un biopolímero son provenientes de fuentes naturales, y ello en combinación con hortalizas cultivadas de manera agroecológica, que son propiamente productos orgánicos^{13 14}; dan como resultado un producto altamente inocuo desde el punto vista químico.

En efecto, la conservación de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas en atmósfera modificada, favorece el aumento de su vida útil; pues la consecución de una atmósfera modificada de equilibrio está de acuerdo con la tasa de respiración de la matriz y la permeabilidad del material de envase. El material de envase a utilizar para contener estas mezclas bajo atmósfera modificada está condicionado a unas características mecánicas que implican un intercambio de gases entre el ambiente que rodea el producto y el ambiente externo, propiciando así el equilibrio atmosférico. No menos importante, la utilización de un biopolímero para el envasado de vegetales provenientes de cultivos agroecológicos, genera una promesa de valor direccionada a cumplir con la concurrencia de un producto nutritivo e inocuo y un envase amigable con el medio ambiente, que interceptan el ciclo agroecológico de manera contundente.

1.1 Planteamiento de problema

El fenómeno conocido como Transición Nutricional, es entendido como una secuencia de características y cambios del estado nutricional de la población, como consecuencia de la sustitución de la alimentación tradicional por una alimentación híper calórica con exceso de grasas y azúcares en medio de cambios económicos, demográficos, sociales y de salud ¹⁵. Esta transición según los expertos tiene innumerables características políticas, sociales y económicas asociadas; entre ellas, el aumento de la disponibilidad a bajo costo de alimentos procesados y la disminución del tiempo disponible para la preparación de alimentos debido al acelerado estilo de vida actual.

A lo anterior, se le suma el papel laboral que ha venido desempeñando la mujer en los últimos años, el acceso de las mujeres a la fuerza laboral en Colombia dio un salto del 24 % en las últimas 2 décadas, al pasar de 31,6 en 1990, a 55,8 % en 2013. La mujer actual ha reorientado sus prioridades y cada vez pasa menos tiempo en casa¹⁶. Esto ha afectado significativamente el rol atribuido a la alimentación, pues pasó de ser un momento en el que se fortalecían lazos sociales y se consumían alimentos muy frescos; a una actividad momentánea y de segundo plano a la que cada vez se le da menos prioridad. Debido a lo anterior nace la idea de los alimentos procesados, pensados como una herramienta clave para ahorrar esfuerzos, tiempo y energía ¹⁷. Según cálculos

de Euromonitor International, procesados por Invest (Agencia de promoción de inversiones en Bogotá, Colombia), el consumo de estos alimentos crecerá en los próximos tres años en un 40%¹⁸ y se invertirá un poco menos del doble de dinero en la obtención de esos productos; es decir que se pasará de 23 mil millones de dólares a 30 mil millones de dólares, como se muestra en la Figura 1.

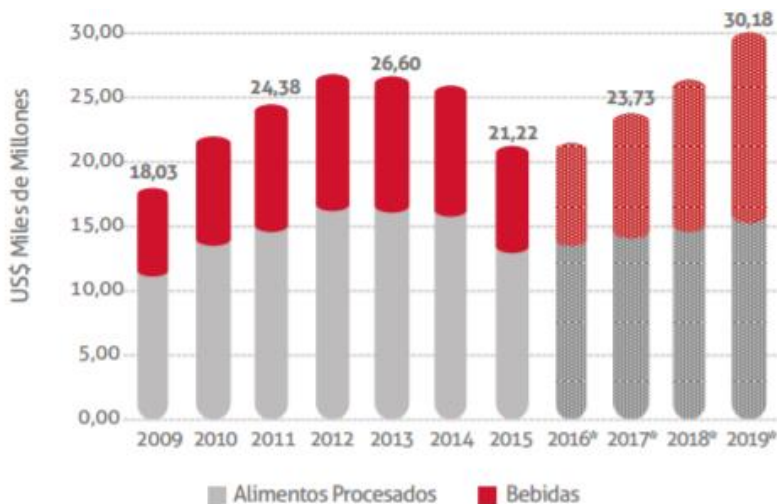


Figura 1: Ventas de alimentos procesados en Colombia (2009-2019). Fuente: (4). 2016.

De hecho, en el nuevo informe: *Alimentos y bebidas ultra procesadas en América Latina: tendencias, efectos sobre la obesidad, e implicaciones para las políticas públicas* se evidenció que del año 2000 al 2013 las ventas per cápita de los productos procesados aumentaron un 26,7% en los países de América Latina, mientras que en América de Norte disminuyeron en un 9,8%. Aunque Colombia se encuentra solo por encima de Bolivia, Perú y Ecuador, respecto a los 13 países evaluados en el informe, el incremento en las ventas de productos y bebidas procesadas en todos los países de América latina es innegable. Se concluyó además que en México y Chile, los datos relacionados con el aumento del consumo de alimentos procesados estuvieron vinculados fuertemente con el aumento del peso corporal¹⁹.

Carlos Monteiro, profesor de la Universidad de São Paulo en Brasil, señala que "el rápido aumento en el consumo de productos alimenticios y bebidas procesadas, es la principal causa dietética del aumento rápido y simultáneo de la obesidad en todo el mundo"²⁰.

De acuerdo a los resultados de la ENSIN (Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia) 2010, se identificó que los alimentos procesados además de ser considerados una alta fuente de sodio, son consumidos semanalmente por el 73,6% de la población entre 5 y 64 años. Los alimentos de paquete también hacen parte de la alimentación del 69,6% de los colombianos y son preferidos en mayor medida por niños y jóvenes ²¹.

La alta publicidad que se realiza a los alimentos procesados es uno de los factores que aumenta el problema. La OMS (Organización Mundial de la Salud) elaboró un plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles (diabetes, hipertensión y obesidad) 2013-2020, en el que propone la restricción de la publicidad de alimentos y bebidas no alcohólicas dirigida a los niños ²².

Con relación a lo anterior se crea la necesidad de consumir alimentos saludables que aporten mayor cantidad de nutrientes a la dieta, que sean bajos en calorías y no excedan los niveles de grasas y carbohidratos estimados, La empresa Colombina S.A. (Valle del Cauca, Colombia), afirma que el portafolio de productos con beneficios ha aumentado, pues nuevos públicos están demandando alimentos libres de azúcar, sin colorantes, aditivos, ni saborizantes ²³.

Mientras tanto, en el sector hortofrutícola, el consumo per cápita promedio mundial de hortalizas pasó de 78.6 kilogramos a 117 kilogramos al año entre 1992 y 2005.

De acuerdo a Figura 2, en el 2004 el consumo nacional aparente de hortalizas fue de 45 toneladas; es decir, que cada colombiano consumió más de un kilo al año. Aunque esta cifra es muy baja, el incremento en el consumo de hortalizas ha venido creciendo a una tasa promedio anual de 49% desde el año 2000.

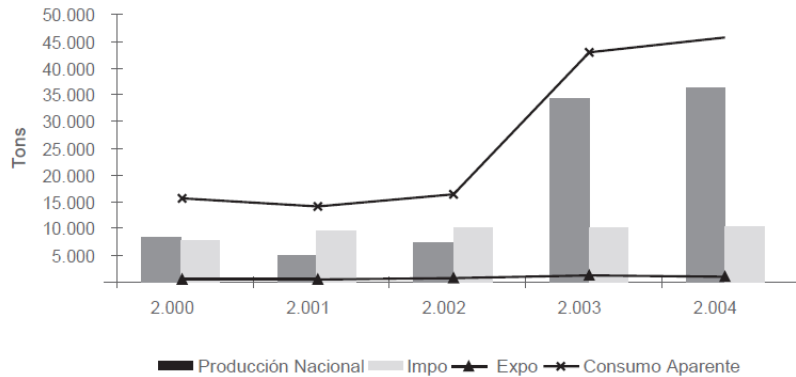


Figura 2: Producción, importaciones, exportaciones y consumo aparente de hortalizas procesadas en toneladas. Fuente (10). 2013.

De acuerdo con diversos análisis de tendencia en el consumo realizado en el año 2005, según la CCI (Corporación Colombiana Internacional), la preferencia en el consumo está orientada a los productos frescos, orgánicos, con bajos niveles de aditivos, sal, azúcar y grasas saturadas. De igual forma se destacan los alimentos convenientes, que incluyen aquellos listos para consumir ²⁴.

La demanda en la categoría de alimentos saludables o mínimamente procesados es muy dinámica, afirma el presidente de Almacenes Éxito (Colombia)²³.

En Latinoamérica, los conceptos “bio”, “eco”, y “orgánico” acompañan cada vez más a los alimentos, y los consumidores se preocupan más por examinar las etiquetas que llevan los productos. Existe un gran interés por comer sano, bajo en grasas y elegir alimentos mínimamente procesados, que además provengan de una producción donde el comercio justo sea protagónico ²⁵. El propósito de los alimentos mínimamente procesados es proporcionar al consumidor un producto hortícola (en su mayoría frutas u hortalizas), muy parecido al fresco, con una vida útil prolongada, manteniendo una sólida calidad nutritiva y sensorial y garantizando la seguridad de los mismos ³. Sin embargo, el mayor problema de la comercialización de productos mínimamente procesados radica en su conservación, debido a los daños físicos ocurridos en los tejidos vegetales durante el proceso; estos daños aceleran el proceso metabólico, provocando deterioro de las características sensoriales, pérdida de nutrientes y desarrollo de microorganismos que afectan directamente la calidad y acortan la vida útil del producto. Para evitar lo anterior, es vital contar con un sistema de envasado adecuado, que garantice la conservación del producto y a su vez mantenga el valor

nutritivo e inocuo intacto. Los polímeros derivados del petróleo utilizados en la conservación de este tipo de alimentos como el polipropileno, el polietileno de baja densidad y el poli vinil cloruro (PVC), aunque reúnen unas excelentes condiciones de protección, disponibilidad, bajo costo y muy buenas propiedades de maquinabilidad; no son totalmente reciclables y/o biodegradables y poseen serios problemas ecológicos ¹⁰. Normalmente los polímeros convencionales están compuestos de otros químicos como aditivos, plastificantes, estabilizantes, colorantes; entre otras sustancias, que son indispensables para la procesabilidad del material, por esta razón emplear un polímero utilizando 100% recursos renovables es un reto, y la tendencia mundial es utilizar cada vez más, una alta proporción de recursos renovables posibles.

Diversidad de artículos de investigación, han evaluado factores que inciden significativamente sobre la vida útil de productos mínimamente procesados: materiales de envase, envases con micro perforaciones, atmósferas modificadas, absorbedores de etileno, recubrimientos comestibles, entre otra cantidad de factores evaluados para prolongar la vida útil de estos alimentos. Sin embargo, estas iniciativas apuntan hacia la conservación individual de las hortalizas, más no a la mezcla entre ellas; lo anterior se encuentra soportado en la tabla 1, donde se observan algunos estudios recientes de conservación de alimentos IV gama o Mínimamente Procesados.

Tabla 1 Estudios recientes sobre conservación de alimentos mínimamente procesados o IV gama. Tabla elaborada por la autora Susana Ríos Echavarría. 2017

TÍTULO	FUENTE	SISTEMA DE ENVASADO
		Se utilizaron los siguientes envases:
		A. Polietileno + Nylon.
		B. PD961.
		C. PET.
		D. PVC.
Preservación de lechuga iceberg fresca cortada, envasada en atmósfera modificada	Advanced graphic Communications, Packaging Technology and materials. Yanxin Xu Xiangning Chen 2015. China ²⁶	Y las siguientes proporciones de gases: P1 = 3% O ₂ y 10% CO ₂ P2 = 10% O ₂ y 17% CO ₂ P3 = 20% O ₂ y 30% CO ₂
		Al finalizar el estudio se evidenció que la proporción de gases P1, combinada con el material A, prolongaron la vida útil de la lechuga de 5 a 14 días, almacenadas a 4°C.

<p>Modelación de la tasa de respiración del brócoli mínimamente procesado. (<i>Brassica rapa var. sylvestris</i>) para diseño de envasado en atmósfera modificada</p>	<p>International Journal of Food Science and Technology Elena Torrieri, et al, 2010. Italia ²⁷</p>	<p>En brócoli se utilizaron las siguientes mezclas: a) 3%O₂ / 15%CO₂ b) 21%O₂/20%CO₂</p>
<p>Desarrollo de malos olores en espinaca baby envasada en atmósfera modificada: Un problema sin resolver</p>	<p>Postharvest Biology and Technology Juan A. Tudela, et al, 2013 España ²⁸</p>	<p>Utilizando OPP (Polipropileno Orientado)</p> <p>La tasa de respiración con menores valores se obtuvo a una atmósfera de 3%O₂ y 15% CO₂ Se utilizaron los siguientes sistemas de envasado: a) 1%O₂ y 11% CO₂ b) 1% O₂ con Ca(OH)₂ como absorbedor de CO₂ c) 10%O₂ y 9%CO₂.</p>
<p>Diseño de envase con atmósfera modificada equilibrada (EMAP) para frutas y vegetales frescos con el uso de microperforaciones en film de ácido Poliláctico (PLA)</p>	<p>Postharvest Biology and Technology Antonis Mistriotis, et al, 2016 Grecia ²⁹</p>	<p>Utilizando polipropileno con una macro perforación de 2 mm de diámetro. Se concluyó que la muestra con la proporción de gases a), redujo su vida útil, por el desarrollo de malos olores fuertes.</p> <p>Se utilizó un sistema de envasado de atmósfera modificada en equilibrio a partir del cálculo de las tasas de respiración del Tomate cherry utilizando OPP (Polipropileno orientado) y PLA con microperforaciones. Al finalizar el estudio se concluyó que la alta permeabilidad al vapor de agua del PLA comparados con la permeabilidad de films convencionales, permite desarrollar un sistema de envasado con condiciones óptimas de humedad relativa</p>
<p>Aplicación de atmósfera modificada como una aproximación a la seguridad de frutas frescas y hortalizas cortadas: una revisión</p>	<p>Trends in Food Science and Technology M. Oliveira, et al, 2015. España ³⁰</p>	<p>Se evaluaron de manera independiente tres diferentes variedades de lechuga, espinaca, fresa y zanahoria; utilizando diversas mezclas de gases. Así mismo, se utilizaron atmósferas activas y pasivas empleando materiales de envasado con alta, mediana y baja barrera a los gases, para facilitar el equilibrio atmosférico Se evaluó repollo morado, champiñones y Apio nabo en las siguientes mezclas de gases</p>
<p>Efecto de envasado con atmósfera modificada con alto oxígeno sobre el crecimiento microbiano y la calidad sensorial de productos frescos cortados</p>	<p>International Journal of Food Microbiology. Liesbeth Jacxsens et al, 2001. Bélgica. ³¹</p>	<p>a) 3%O₂/5%CO₂ Balance N₂ b) O₂ > 70%</p> <p>Se utilizó Polipropileno Biorientado</p>
<p>Bajos niveles de oxígeno y exposición a la luz afectan la calidad de la lechuga romana fresca cortada</p>	<p>Postharvest Biology and Technology. Ascensión Martínez-Sánchez et al, España. 2011.³²</p>	<p>Atmósferas con alto contenido de O₂ se encontraron efectivas para inhibir el pardeamiento enzimático, también se observó una reducción en el crecimiento de levaduras. Se evaluó lechuga romana fresca cortada, con una concentración de O₂ de 0,5-2 KPa. Se expusieron las muestras a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a 4°C para observar cómo afectaba la luz, se midieron cambios en la tasa de respiración, composición del</p>

Cómo la tasa de respiración de la lechuga mínimamente procesada es afectada por el envase	Journal of Food Engineering M.A. Del Nobile et al, Italia. 2006 ³³	gas en el espacio de cabeza, calidad sensorial, color, y pérdida de Vitamina C. Lechuga crespa y romana fueron evaluadas en tres diferentes polímeros; a) PF1 Poliolefina b) PF2 Poliolefina c) BF Biodegradable
Estandarización de las condiciones de proceso de zanahoria (<i>Daucus Carota</i>) y lechuga (<i>Lactuca sativa</i>) como productos mínimamente procesados refrigerados (MPR) obtenidos a partir de cultivos convencionales y orgánicos en la empresa JC Asociados	Tesis de grado Ingeniería de alimentos. Universidad De La Salle, Bogotá. Diana Izquierdo et al, 2006. Colombia ³⁴	La más baja actividad respiratoria fue encontrada para el film PF1. La variación de color no fue significativa para ninguno de los films. Se evaluaron características de calidad de zanahoria y lechuga mínimamente procesadas, obtenidos a partir de cultivos orgánicos y convencionales. Se utilizó la siguiente mezcla de gases 5% O ₂ /5% CO ₂ /90% N ₂ El material utilizado fue BOPP y las muestras fueron almacenadas a 4°C durante 2 días. Se observó que siempre los vegetales provenientes de cultivos orgánicos mostraron mayor calidad en cuanto a los descriptores sensoriales, frescura, sabor y olor.

Evaluar los factores que inciden sobre la vida útil de mezclas de hortalizas, es una necesidad importante para el sector, y un gran reto; pues los procesos fisiológicos que encierra cada hortaliza, difieren ampliamente en relación a su tasa de respiración, transpiración, y producción de etileno. Además, el impacto generado desde el componente sensorial influye de manera significativa en la determinación de mezclas entre hortalizas, pues pone en juego la aceptación del consumidor.

Ofrecer mezclas de hortalizas mínimamente procesadas provenientes de cultivos agroecológicos, conservadas bajo un sistema de envasado que garantice el equilibrio atmosférico utilizando un material apropiado; es una alternativa a un mercado que brinda pocas opciones para satisfacer la necesidad actual de los consumidores, que exigen alimentos saludables en un medio laboral acelerado, y del medio ambiente, que reclama procesos más amigables para disminuir sus índices de contaminación y preservar sus recursos. Además, esta investigación abre las posibilidades a nuevos estudios relacionados

a la conservación de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, considerando que hay diferencias en cada una de ellas en cuanto a sus procesos fisiológicos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de un biopolímero en la vida útil de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, provenientes de cultivos agroecológicos, envasadas en atmósfera modificada.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar las características sensoriales y tasa de respiración de nueve hortalizas orgánicas mínimamente procesadas provenientes de cultivos agroecológicos.
- Establecer por modelamiento matemático, la proporción de gases para mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, en función de su dinámica respiratoria.
- Evaluar estabilidad microbiológica, fisicoquímica y sensorial de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, envasadas en biopolímero y polímero convencional, usando atmósfera modificada.
- Estimar la vida útil sensorial del mejor tratamiento, utilizando la metodología de punto de corte.

2. MARCO TEÓRICO

En Colombia se pierden y se desperdician un equivalente a 34% de la oferta total nacional disponible de alimentos, el 62% de esa pérdida y desperdicios corresponden a frutas y verduras, y el 25% a raíces y tubérculos ³⁵.

La disminución de la pérdida y desperdicios de alimentos es actualmente un propósito mundial descrito a partir de los objetivos de desarrollo sostenible ideados en el año 2015 por la Organización de las Naciones Unidas en compañía con líderes mundiales, con el fin de erradicar la pobreza, disminuir el hambre y cuidar el planeta; estos objetivos tienen un plazo de alcance de 15 años y hacen parte de la agenda de desarrollo sostenible ³⁶.

Una de las soluciones que ayuda a combatir las pérdidas y los desperdicios es la agroecología, además de preverse como una alternativa nutritiva e inocua. La Alianza por la Soberanía Alimentaria en África, desarrolló en el 2013 una herramienta donde analizó el impacto generado por 50 estudios en los que se utilizaba la agroecología, con respecto a los objetivos de sostenibilidad mundial, y encontró que la agroecología aporta positivamente a 10 de los 17 objetivos de sostenibilidad ³⁷. Ciudades y comunidades sostenibles, producción y consumo responsable, acción por el clima y vida de ecosistemas terrestres; son algunos de los objetivos de sostenibilidad a los que le apunta el desarrollo de sistemas agroecológicos y la ONU (Organización de las Naciones Unidas).

Los costos de producción también hacen parte de la sostenibilidad empresarial y ambiental. Contrario al pensamiento de muchos, las tecnologías aplicadas para la conservación de los cultivos orgánicos son de menor costo comparadas con las utilizadas en cultivos convencionales, afirma Siembra Viva; Colombia, “el costo de la mano de obra requerida en un sistema de producción orgánica no supera los costos de los insecticidas, plaguicidas y otros abonos químicos utilizados para la producción convencional”³⁸. Aunque los rendimientos en la producción orgánica son alrededor del 30% menores comparados con los cultivos convencionales, en los primeros años; estos rendimientos aumentan gradualmente con el tiempo debido a las mejoras de la capacidad y fertilidad del suelo ³⁹, fenómeno conocido como transición, este fenómeno se da al cabo de dos años de tener una


producción orgánica estable y su rendimiento llega a alcanzar el mismo rendimiento de un sistema de cultivo convencional.

En Colombia, el volumen del mercado para alimentos orgánicos en el sector de ventas al por menor estuvo entre 2 y 3 millones de dólares en el 2010.

El mercado de productos orgánicos tiene un público significativo latente interesado en este tipo de productos, bien sea por su calidad, confiabilidad, sabor, propiedades o por causar un menor impacto medioambiental. En 2013 el mercado de productos agroecológicos en Colombia creció en ventas un 4,98% ⁴⁰.

En el estudio global sobre salud y bienestar realizado por Nielsen Company, en Enero de 2015, se evidencia el porcentaje de peso que se le da a cada atributo de salud (ingredientes provenientes de fuentes sostenibles, orgánicos o ingredientes locales) sobre la decisión de compra, como se observa en la tabla 2 ⁴¹.

Tabla 2 Estudio estadístico Proexport-Sippo. Fuente 39. 2015.



	PROMEDIO GLOBAL	ASIA	EUROPA	AFRICA	AMERICA LATINA	NORTE AMERICA
INGREDIENTS SOURCED SUSTAINABLY/FAIR TRADE	35%	43%	25%	26%	43%	20%
ORGANIC	33%	36%	28%	33%	45%	24%
LOCAL HERBS/INGREDIENTS	26%	27%	23%	33%	32%	20%

Los productos orgánicos son considerados un atributo de salud para el consumidor de América latina dentro del concepto de sostenibilidad con un peso del 45% sobre la decisión final de compra. Este valor refleja que América latina está por encima de los demás continentes con respecto a la importancia que los consumidores le dan a los productos orgánicos en la decisión final al momento de comprar.

En un estudio realizado desde la Universidad del estado de Florida y la Universidad de Michigan (USA) en 2014, se comprobó mediante una prueba de preferencia, que los consumidores adquieren alimentos orgánicos no solo por su utilidad o beneficios personales que generan, sino también por sus beneficios sociales, debido a que las personas

creen en los beneficios de la agricultura orgánica como una cultura que impacta los comportamientos sociales de las personas positivamente ⁴².

El consumo de este tipo de alimentos se trata de un movimiento que va creciendo y va acompañado de preferencias específicas sobre lo que debe o no contener un alimento al pensar en la salud y el bienestar antes de ser consumido ⁴³. En investigación realizada con 5 hortalizas (zanahoria, lechuga, espinaca, repollo, papa) se comparó la calidad nutricional de vegetales orgánicos con vegetales de cultivo convencional, y se encontró que los cultivos orgánicos contenían significativamente más vitamina C, hierro, magnesio, fósforo y menos nitratos que los cultivos convencionales. Se encontraron además menores cantidades de algunos metales pesados en los cultivos orgánicos en comparación con los convencionales ⁴⁴

América Latina y el Caribe, reúnen entre el 17% y el 20% del comercio mundial de los productos orgánicos. La Corporación Interamericana de Inversiones mencionó en el boletín CRHOY (Costa Rica Hoy) que un cuarto de la tierra cultivable para productos orgánicos se encuentra en Latinoamérica, especialmente Argentina, Brasil y Uruguay ⁴⁵.

A esto es importante sumarle el tema de conservación y envasado, el cual se presenta como otra alternativa a la disminución de pérdidas y rendimientos, además le aportan un valor agregado a la comercialización del producto final.

Los alimentos mínimamente procesados o cuarta gama, son una tendencia mundial y el reto para la mayoría de las comercializadoras de estos productos es ofrecerlos a partir de cultivos orgánicos; sin embargo, aunque en Colombia el auge del consumo de los alimentos mínimamente procesados crece lentamente, la región no ha presentado un gran crecimiento en la industria procesadora de estos alimentos. Diferente es la situación que se vive en los países europeos y en Norteamérica. En el Reino Unido por ejemplo, las ventas fueron de más de 700 millones de euros en el 2005 y en Francia se vendieron 77.000 ton de este tipo de productos, seguido por Italia con 42.000 ton. En Italia el 40% de las personas incluyen alimentos mínimamente procesados en su dieta ¹.

Como se observa en la Figura 3 la atmósfera modificada tiene un valor agregado alto para los alimentos mínimamente procesados o IV gama (vegetales frescos, troceados, lavados y

envasados bajo atmósfera modificada pasiva o activa y listos para el consumo). Este valor agregado no necesariamente está relacionado con el aumento de costos, pues el proceso de congelación rápida individualizada (IQF) es un proceso mucho más costoso respecto a la implementación de atmósfera modificada y su valor agregado no supera el de la metodología con atmósfera ²⁴.

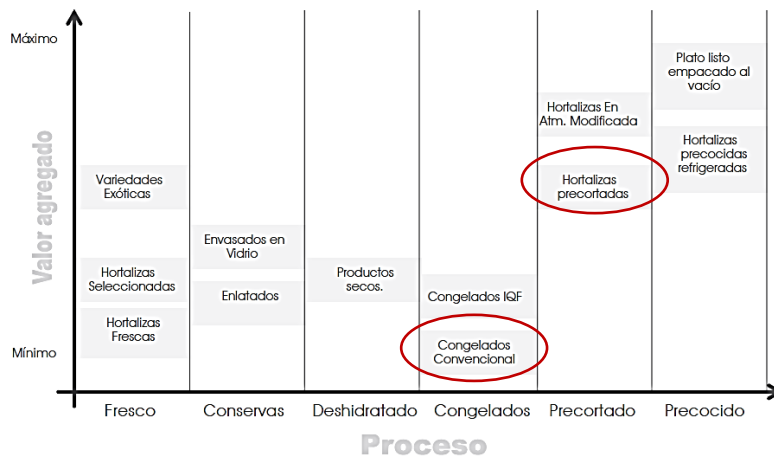


Figura 3 Niveles de agregación de valor según el proceso aplicado. (Fuente10). 2013

Un aspecto vital para garantizar la eficiencia en la implementación de atmósferas modificadas es el material de envase, el mercado mundial le ha dado gran importancia a los productos orgánicos empleando envases biodegradables o fácilmente reciclables y respetuosos con el medio ambiente para atraer más consumidores, pero esto no solo se convierte en una estrategia de marketing, el biopolímero impacta de una manera positiva el planeta disminuyendo la huella de carbono y reduciendo el efecto invernadero; nuevamente características dirigidas hacia el cumplimiento de los objetivos de sostenibilidad mundial. Además de ello, la utilización de biopolímeros en alimentos IV gama es un plus que cumple una última función de amigabilidad con el ambiente para entregar un producto fresco, natural, nutritivo, inocuo y práctico al consumidor y que mantiene intacto el esfuerzo puesto en los cultivos agroecológicos con una migración total mínima de componentes químicos.

La atmósfera modificada es una técnica para modificar la atmósfera dentro del envase, proporcionando una remoción de aire desde el interior, y reemplazándolo por una mezcla de gases, para reducir el deterioro de la calidad y mejorar la vida útil. La mezcla de gases

usada depende del tipo de producto. La atmósfera gaseosa cambia continuamente a través del periodo de almacenamiento, debido a factores tales como la respiración del producto, cambios bioquímicos y la permeabilidad del material de envase ⁴⁶.

El envasado en atmósfera modificada es usado para varios tipos de productos, y la mezcla específica de gases en cada caso, depende del tipo de producto, el material de envase y la temperatura de almacenamiento. Si la permeabilidad del film es adaptada a la respiración del producto, una atmósfera modificada en equilibrio es establecida en el envase, y la vida útil del producto incrementa ³⁰.

La aplicación de atmósfera modificada utilizada en alimentos mínimamente procesados o productos frescos, consiste en alterar la atmósfera dentro del envase, la cual es conseguida por la interacción natural entre la tasa de respiración del producto, el intercambio de gases del exterior a través del material de envase ⁴⁷, y en ocasiones la mezcla de gases en el interior; para ello, el material de envase debe ser minuciosamente seleccionado respecto a sus propiedades de barrera y grosor. La figura 4, muestra gráficamente el fenómeno de envasado bajo atmósfera modificada en productos frescos ⁴⁸.

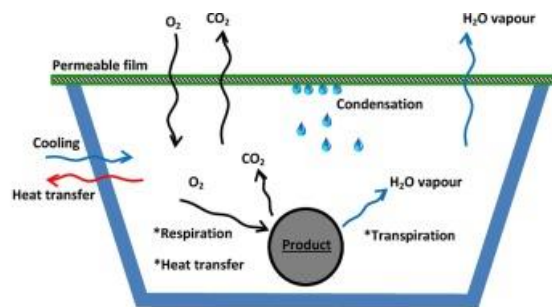


Figura 4 Vista gráfica del fenómeno continuo de envasado bajo atmósfera modificada de productos frescos. Fuente: (37). 2016

Varios estudios reportan modelos aproximados para describir y predecir interacciones entre características fisiológicas del producto, propiedades del material de envase y las condiciones externas del ambiente usando ecuaciones matemáticas para el diseño de una atmósfera exitosa.

En 2010 Torrieri y colaboradores modelaron la velocidad de respiración del brócoli mínimamente procesado para el diseño de atmósfera modificada ²⁷. Una vez calculada la

velocidad de respiración de la matriz, utilizaron una ecuación tipo Arrhenius para modelar la influencia de la temperatura sobre la velocidad de respiración y finalmente utilizaron la ecuación de Michaelis-Menten para determinar la dependencia de la tasa de respiración sobre la composición del gas. La tasa de respiración fue medida a 3, 5, 7, 10, 15 y 20°C bajo diferentes composiciones del gas (1% 5% 10% 15% y 21% O₂) y mezclas de (20%CO₂ y 21% O₂, y 15%CO₂ y 3% O₂). Obtuvieron como primera conclusión, que sin importar la mezcla de gases utilizada, al aumentar la temperatura de almacenamiento, la producción de CO₂ y el consumo de O₂ aumentaron; a su vez, demostraron que la temperatura tiene más incidencia sobre la tasa de respiración que el incremento de la concentración de O₂ en la atmósfera; es decir, que contenidos elevados de O₂ en la atmósfera modificada no tienen un efecto significativo sobre la velocidad de respiración del producto. Por su parte, la tasa de respiración con menores valores se obtuvo a una atmósfera de 3%O₂ y 15% CO₂.

Esta metodología mantiene su veracidad siempre y cuando su aplicación esté dirigida a la conservación de un solo vegetal u hortaliza, más no a la conservación de mezclas entre ellas, pues las tasas de respiración de cada una, difiere considerablemente y la consecución de un ambiente o atmósfera en equilibrio es mucho más complejo.

Diversos estudios han comprobado la atmósfera óptima y algunos materiales de envasado ideales para prolongar la vida útil de hortalizas mínimamente procesadas en su conservación individual, pero no de mezclas de ellas, que es el objeto de estudio de este proyecto de investigación. Existe poca información sobre las mezclas de gases direccionadas hacia la conservación de mezclas de hortalizas, sin embargo, los sistemas de envase que están definidos para cada hortaliza en particular, permiten un acercamiento hacia el modelamiento de mezclas de gases para la conservación de mezclas de hortalizas que tienen un comportamiento diferente desde el punto de vista fisiológico.

Por ejemplo en el 2013, investigadores del grupo de investigación CEBAS en España y de la Universidad de California en Estados Unidos, evaluaron 3 tipos de atmósferas para observar el comportamiento de espinaca baby en relación a su vida útil, y a la producción de malos olores; bajo O₂ con CO₂ (1%O₂ y 11% CO₂), bajo O₂ sin CO₂ (1% O₂), con

Ca(OH)₂ como absorbedor de CO₂ y moderado O₂ con CO₂ (10%O₂ y 9%CO₂); con el mismo material pero con una macroperforación de 2mm de diámetro. Todas las muestras se almacenaron en films de Polipropileno ²⁸. Al final del estudio encontraron que las muestras almacenadas en atmósfera modificada con bajo O₂ y CO₂ (1%O₂ y 11% CO₂) redujeron su vida útil, por el desarrollo de malos olores, esta proporción se acerca a los valores utilizados por Torrieri en 2010, para el almacenamiento de brócoli, la cual resultó como la mejor opción para la prolongación de vida útil. Sin embargo, los investigadores españoles afirman que la problemática del desarrollo de malos olores en espinaca está aún sin resolver, pues envases poliméricos con perforaciones pueden disminuir la presencia de malos olores pero reducir su vida útil, mientras que envases sin perforaciones pueden alargar su vida útil pero incrementar la presencia de malos olores.

También en 2015, investigadores de la Universidad de agricultura en Beijing, China ²⁶ estudiaron el efecto del envase en atmósfera modificada para lechuga iceberg fresca cortada con diferentes materiales de envase: A. Polietileno + Nylon. B. PD961. C. PET. D. PVC. Y diferentes proporciones de gases. Proporción 1 (P1 = 3%O₂ y 10% CO₂) (P2 = 10%O₂ y 17%CO₂) (P3 = 20%O₂ y 30% CO₂). Al finalizar el estudio se evidenció que la proporción de gases P1. (P1 = 3%O₂ y 10% CO₂), combinada con el material A. Polietileno + Nylon prolongaron la vida útil de la lechuga de 5 a 14 días, almacenadas a 4°C.

El almacenamiento en atmósfera modificada de los vegetales y hortalizas en general de manera individual está ampliamente estudiado, inclusive se encuentran revisiones donde es posible conocer mezclas de gases ideales para vegetales frescos cortados³⁰.

La tabla 3 muestra diferentes tipos de atmósfera aplicada a distintas hortalizas, y aunque los niveles de O₂ la mayoría de las veces están por debajo de los niveles de CO₂, las proporciones son muy variables entre cada hortaliza, y es difícil establecer las atmósferas adecuadas para una mezcla entre dos o más hortalizas.

Tabla 3 Recomendaciones de almacenamiento en atmósfera modificada para frutas y vegetales frescas cortadas. Fuente: (18). 2015.

Product	Temperature (°C)	Atmosphere	
		O ₂ (%)	CO ₂ (%)
Fresh-cut Vegetables			
Broccoli	0-5	2-3	6-7
Shredded cabbage	0-5	5-7,5	15
Shredded, sticks or sliced carrots	0-5	2-5	15-20
Sliced leek	0-5	5	5
Chopped butterhead lettuce	0-5	1-3	5-10
Chopped green leaf lettuce	0-5	0,5-3	5-10
Chopped or shredded iceberg lettuce	0-5	0,5-3	10-15
Chopped red leaf lettuce	0-5	0,5-3	10-15
Chopped romaine lettuce	0-5	0,5-3	5-10
Sliced mushrooms	0-5	3	10
Sliced or diced onion	0-5	2-5	10-15
Diced peppers	0-5	3	5-10
Sliced or whole-peeled potato	0-5	1-3	6-9
Sliced rutabaga	0-5	5	5
Cleaned spinach	0-5	0,8-3	8-10
Sliced tomato	0-5	3	3
Sliced zucchini	5	0,25-1	-
Fresh-cut fruits			
Sliced apple	0-5	<1	-
Cubed cantaloupe	0-5	3-5	6-15
Cubed honeydew	0-5	2	10
Sliced kiwifruit	0-5	2-4	5-10
Sliced orange	0-5	14-21	7-10
Sliced peach	0	1-2	5-12
Sliced pear	0-5	0,5	<10
Sliced persimmon	0-5	2	12
Arls (seed coating) pomegranate	0-5	-	15-20
Sliced strawberry	0-5	1-2	5-10

Diversas fuentes, afirman que atmósferas modificadas en equilibrio, contienen entre un 2-5% de O₂ y 3-8% de CO₂. Estos valores reducen la degradación de la clorofila, disminuyen el crecimiento de microorganismos y retardan el pardeamiento enzimático^{49, 50}

Pero existe otra metodología basada en el diseño de envasado para conseguir un equilibrio atmosférico combinando las propiedades del material de envase y la tasa de respiración del producto sin utilización de mezclas de gases, algunas fuentes e investigadores la llaman atmósfera modificada en equilibrio⁴⁷. Y solo es utilizado en productos frescos, como frutas y hortalizas, pues gracias a su tasa de respiración es posible lograr el equilibrio con el medio ambiente que lo rodea.

Otro estudio de envasado en atmósfera modificada en equilibrio fue diseñado en 2016 en Grecia por investigadores de la Universidad de la Agricultura de Atenas en compañía de investigadores del Instituto de ciencias de producción de alimentos de Italia²⁹, sin embargo afirman que los resultados utilizando envases plásticos convencionales tienen una incidencia seria en el medio ambiente, por tanto reemplazaron estos envases convencionales por PLA. Evaluaron tres tipos de PLA combinado con micro perforaciones estudiadas a través de simulaciones numéricas en 3D para tomate cherry y duraznos, por separado. Al finalizar el estudio se concluyó que la alta permeabilidad al vapor de agua del

PLA comparados con la permeabilidad de films convencionales, permite desarrollar un sistema de envasado con condiciones óptimas de humedad relativa para los productos almacenados. Una humedad relativa óptima permite prolongar la vida útil, evitando el crecimiento de mohos y levaduras y bacterias mesófilas.

La consecución del equilibrio atmosférico dentro del envase sin utilizar atmósfera modificada es una alternativa que se torna interesante para determinar si existe una incidencia significativa de la atmósfera modificada sobre la conservación del producto, claramente existe una dependencia de la vida útil con del tipo de material polimérico usado, y el tipo de producto a envasar.

Los pocos estudios encontrados sobre mezcla de vegetales no realizan ningún modelamiento matemático para definir la mezcla de gases utilizada, por el contrario, utilizan mezclas comerciales o definidas en la literatura o estudios anteriores.

En 2013 investigadores de la Universidad de Sao Paulo en Brasil, investigaron el potencial de crecimiento de *Salmonella* y *Listeria Monocytogenes* en mezclas de lechugas listas para el consumo y coles⁵¹. El estudio se realizó en atmósfera modificada y en envases con macro perforaciones. La mezcla de gases evaluada contenía 5% O₂, 15% CO₂ y 80%N₂, y fue elegida como la más usada para vegetales listos para el consumo en la mayoría de las industrias en el estado de Sao Paulo, Brasil. El material de envase utilizado fue polipropileno Biorientado (BOPP) como capa externa y una estructura coextruída de polietileno de baja densidad lineal y polietileno de baja densidad como capa interna. Las muestras fueron almacenadas a 7°C y por 6 días.

Al finalizar el estudio se concluyó que el potencial de crecimiento de cepas de *Salmonella* y *Listeria Monocytogenes* fue mayormente inhibido cuando los vegetales fueron envasados en film con perforaciones; es decir, en ausencia de atmósfera modificada a 7°C. Los investigadores afirman que diversas investigaciones indican que la supervivencia y el crecimiento de cepas de *Salmonella* y *Listeria Monocytogenes* son favorecidas bajo condiciones de atmósfera modificada, debido al efecto bacteriostático del CO₂ sobre la microbiota antecedente, lo que conduce a la prevalencia de patógenos alimentarios. Sin embargo, este comportamiento podría ser contrarrestado realizando un efectivo proceso de

limpieza y desinfección y pretratamientos adecuados, que permitan el control del desarrollo de microorganismos patógenos.

En 2011, investigadores griegos, evaluaron la incidencia de atmósfera modificada en cuanto a la calidad sensorial y microbiológica de dos tipos de lechuga y compararon el comportamiento de un tipo de lechuga almacenada de manera individual y el comportamiento de la mezcla de ellas almacenadas en un mismo contenedor, utilizaron dos diferentes mezcla de gases M1: 5% O₂, 10%CO₂ M2: 2% O₂, 5% CO₂ y una muestra control, con aire ⁵². Obsérvese que los valores son muy similares a los revisados en las investigaciones anteriores. Transcurridos 10 días de almacenamiento, los análisis microbiológicos mostraron que los altos contenidos de CO₂ creados en ambas atmósferas a lo largo del almacenamiento, inhibieron el crecimiento de microorganismos mesófilos y psicrófilos, además el color se retuvo mejor bajo la presencia de atmósfera modificada comparada con la muestra control. Además, se observó que la vida útil de la lechuga almacenada de manera individual se extendió 4 días más, es decir 14 días en total con la atmósfera M1, mientras que la mezcla de hojas tuvo una vida útil de apenas 9 días con la misma mezcla.

El hecho de que el contenido de CO₂ favorezca o no el crecimiento de microorganismos y altere la vida útil del producto, es un punto controversial; sin embargo, no se debe pasar por alto la importancia de las condiciones higiénico-sanitarias durante la manipulación del producto, y los tratamientos previos que ayudan a su conservación, así como las condiciones óptimas del sitio de almacenamiento; entre otros aspectos de inocuidad que hacen que se favorezca el ciclo de vida del producto. Sin embargo, es importante tener en cuenta y observar de cerca cómo es el comportamiento microbiológico del producto en esta investigación, respecto a los contenidos de CO₂, no como un objetivo de la misma; sino como un enriquecimiento a la literatura para aportar un poco más de luz a este controversial punto.

Con respecto al estado de Colombia en cuanto a investigación sobre conservación de vegetales, en 2013, Alejandro Escobar Hernández en compañía de la Universidad Nacional de Colombia y la Fundación INTAL, evaluaron una mezcla de brócoli, coliflor, zuchini,

chayote y zanahoria utilizando dos mezclas de gases, 1) 5% O₂ / 5% CO₂ / 90% N₂ 2) Ambiente normal: 21% O₂ / 0,04 CO₂ / 78% N₂ / 0,96% Otros gases. El primero se empacó en bandeja PET laminada con película BOPP/PEBD (Polietileno de baja densidad) y el segundo en bandejas tipo cartera sin atmósfera, las muestras fueron almacenadas durante 12 días a 4°C y 95% HR¹. Al final del estudio las bandejas con inyección de atmósfera modificada tuvieron una vida útil de 5 días y la tasa de producción de CO₂ fue mayor en este mismo sistema de envasado lo cual influyó en la mayor pérdida de peso.

Del trabajo de Alejandro Escobar se observa que ha reportado un valor de 5 días, el menor valor para vegetales envasados en atmósfera modificada, comparado con los estudios revisados hasta ahora. Una de las razones de este resultado es la no utilización de una hortaliza individual sino la mezcla de ellas, la cual era demasiado variada y compleja en cuando a la diferencia en las tasas de respiración de cada vegetal¹.

En otra investigación realizada en Colombia, en la ciudad de Bogotá, en 2006, como tesis de pregrado de la Universidad de La Salle, por Diana Izquierdo y colaboradores, compararon las características de calidad de zanahoria y lechuga provenientes tanto de cultivos orgánicos como convencionales, envasados en atmósfera modificada, y concluyeron que siempre los vegetales provenientes de cultivos orgánicos conservaron mejor sus propiedades organolépticas de frescura, sabor y aroma³⁴.

3. METODOLOGÍA

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Procedencia de las hortalizas

Las hortalizas, cultivadas en La Ceja, La Unión, Envigado y Marinilla (Antioquia, Colombia) fueron suministradas por la empresa Siembra Viva S.A.S (Medellín, Colombia) envasadas de manera individual en bolsas de Polipropileno. Fueron transportadas refrigeradas al Instituto de Ciencia y Tecnología Alimentaria –INTAL (Medellín, Colombia), para luego ser almacenadas en cava de refrigeración a una temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el momento del procesamiento.

3.1.2. Acondicionamiento de las hortalizas

Todas las hortalizas fueron seleccionadas y lavadas utilizando solución de Degratec 25 a 200 ppm y desinfectadas utilizando una solución de Citrosán a una concentración de 200 ppm, dejando actuar durante 15 minutos, este procedimiento se realizó dos veces.

Las hortalizas de hoja (lechuga romana, lechuga crespa, rúgula, kale, repollo y espinaca) fueron deshojadas descartando las hojas de la superficie y se utilizaron las hojas enteras, las hojas de kale y espinaca fueron separadas de su tallo. Las hortalizas de raíz fueron lavadas, estregadas con cepillo, peladas, y se sometieron a un proceso mecánico de corte mediante una cortadora marca CA-301 (SAMMIC, Azcoitia, España); la zanahoria fue cortada en julianas y la remolacha en cubos. El tomate cherry fue lavado con abundante agua y se utilizó entero. Una vez lavadas y desinfectadas, las hortalizas fueron centrifugadas en un escurridor de verduras ES 200 (SAMMIC, Azcoitia, España), operando a una velocidad de 300 rpm durante 5 minutos.

3.1.3. Determinación de las características sensoriales, medición de la actividad respiratoria y cálculo de la tasa de respiración

3.1.3.1. Panel de jueces

La elaboración de fichas técnicas sensoriales se llevó a cabo por parte del panel entrenado del grupo de Investigación en Análisis Sensorial de la Universidad de Antioquia, en el laboratorio de Análisis Sensorial ubicado en la Escuela de Nutrición y Dietética (Medellín, Colombia); bajo unas condiciones de temperatura de 23°C y humedad relativa de 73%. El laboratorio cuenta con un área de trabajo en grupo, según las condiciones estipuladas por la NTC 3884:1996⁵³. 5 jueces entrenados definieron los descriptores más representativos de cada atributo a evaluar: apariencia, color, olor, sabor y textura; por medio de la metodología de consenso según la GTC 165⁵⁴ y utilizando el vocabulario propuesto por la NTC 3501⁵⁵. Además, se fijó el color de cada una de las hortalizas de acuerdo a la carta de color Pantone®.

3.1.3.2. Medición de la actividad respiratoria

La actividad respiratoria se realizó según la metodología propuesta por Belay, 2016⁹ utilizando un sistema cerrado. Para ello se usaron frascos de vidrio de 540 ml, adquiridos en la empresa Distribuidora Córdoba S.A.S. (Medellín, Colombia), que fueron acondicionados con septum de caucho en sus tapas. Los frascos se lavaron previamente con una solución de Degratec 25 y se desinfectaron con una solución de Penta Quat (amonio cuaternario) a una concentración de 400 ppm, utilizando un tiempo de contacto de 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con abundante agua y se secaron.

Las hortalizas lavadas y desinfectadas fueron dispuestas en los frascos de vidrio hasta la mitad de su capacidad, se registró el peso del material dentro del frasco y el peso del frasco vacío, utilizando una balanza granataria (Marca Ohaus PA 214, Pioneer México). Las hortalizas se almacenaron a unas condiciones de temperatura de 3±1°C y a 95% de humedad relativa, durante el tiempo de medición de actividad respiratoria.

Los cambios en la composición atmosférica interna se midieron a través del septum fijado en las tapas de los frascos de vidrio, con un intervalo de 90 minutos, durante 5 a 9 días de almacenamiento, utilizando un analizador de gases Chek Point O₂ (PBI Dansensor. Mocon Europe A/S Dansensor Ringsted, Dinamarca). La actividad respiratoria de los vegetales procesados se expresó en términos de porcentaje de consumo de O₂ y porcentajes de producción de CO₂. Los datos fueron tomados por triplicado hasta que se presentaron daños sensoriales avanzados en las hortalizas, visibles a través de los frascos.

3.1.3.3. Cálculo de la tasa de respiración

La tasa de respiración se calculó utilizando las concentraciones de gases halladas en la actividad respiratoria, con la fórmula de sistema cerrado descrita por Belay⁴. Tanto para consumo de oxígeno como para producción de dióxido de carbono.

$$RO_2 \frac{(YO_{2ti} - YO_{2tf}) * Vf}{100 * M * (t_f - t_i)} ; RCO_2 \frac{(YCO_{2tf} - YCO_{2ti}) * Vf}{100 * M * (t_f - t_i)}$$

Donde $YO_{2ti} - YO_{2tf}$ son las concentraciones de oxígeno inicial y final y $YCO_{2tf} - YCO_{2ti}$ son las concentraciones de dióxido de carbono final e inicial en cada tiempo. Vf es el volumen libre ocupado dentro del envase. M la masa del producto y $t_f - t_i$ los tiempos final e inicial de la medición.

3.1.3.4. Ajuste a modelo de cinética enzimático Michaelis-Menten

El ajuste de los datos experimentales obtenidos de la tasa de respiración se realizó utilizando el modelo de cinética enzimática de Michaelis-Menten, tal como lo hizo Lee y colaboradores, 1996⁵⁶.

$$r = \frac{Vm [O_2]}{K_m + \left(1 + \frac{[CO_2]}{k_i}\right) * [O_2]}$$

Donde para el consumo de O₂ y producción de CO₂, V_m es la velocidad máxima de respiración en mLKg⁻¹h⁻¹, K_m la constante de Michaelis-Menten (%O₂) y K_i la constante de inhibición (%CO₂). El ajuste se realizó en Microsoft Excel utilizando el complemento Visual Basic 2010.

3.1.4. Establecimiento de la proporción de gases para cada mezcla de hortalizas

3.1.4.1. Fijar mezclas de hortalizas

Se establecieron 4 mezclas de hortalizas según estudios de mercadeo que desarrolló la empresa Siembra Viva S.A.S

MEZCLA A. Kale, lechuga romana, tomate cherry

MEZCLA B. Rúgula, repollo, lechuga crespita, zanahoria.

MEZCLA C. Lechuga crespita, zanahoria, tomate cherry y espinaca.

MEZCLA D. Lechuga romana, kale, remolacha, zanahoria y tomate cherry.

3.1.4.2. Determinación de concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono

La determinación de concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono se realizó utilizando el sistema de ecuaciones diferenciales propuesto por Hayakawa y colaboradores 1975⁵⁷.

$$\frac{d[O_2]}{dt} = 100 \left\{ \frac{SP_{O_2} (0,21 - [O_2]/100)p}{VL} - \frac{\sum W_i r_{O_{2i}}}{V} \right\} \quad \frac{d[CO_2]}{dt} = 100 \left\{ \frac{SP_{CO_2} (0,00 - [CO_2]/100)p}{VL} - \frac{\sum W_i r_{CO_{2i}}}{V} \right\}$$

El sistema de ecuaciones se resolvió utilizando el software Matlab 2017 y el método de Runge Kutta de orden 4.

3.1.5. Estudio de estabilidad

3.1.5.1. Materiales de envase

Los materiales de envase a utilizar fueron Polipropileno Biorientado (BOPP) y un Biopolímero comercial (Natureflex™ NKA), hecho a base de pulpa de madera, recurso renovable y además es compostable certificado. Natureflex es una película que ofrece un rango de sellado térmico amplio, es libre de estática, ofrece buenas propiedades de barrera al gas, es resistente a las grasas. El material fue suministrado por Alico S.A. (Medellín, Colombia).

A los materiales de envase se les determinó su velocidad de transmisión al vapor de agua, al oxígeno y al dióxido de carbono utilizando la metodología de sensor infrarrojo, según las ASTM 1249-13⁵⁸, ASTM 2476-13⁵⁹ ASTM 2476-05⁶⁰, respectivamente. Las pruebas se realizaron a unas condiciones de 23°C y 65% de humedad relativa

3.1.5.2. Evaluación microbiológica

La evaluación microbiológica se realizó en los tiempos inicial, intermedio y final de cada una de las muestras evaluadas en los dos materiales de envase analizados. Los parámetros a evaluar según el compendio INVIMA (1998) fueron:

- NMP Coliformes totales/g NTC 4516:2009 ⁶¹
- NMP E. Coli/g NTC 4939:2001⁶²
- Salmonella spp. NTC 4574:2007 ⁶³

3.1.5.3. Evaluación fisicoquímica

pH: Se realizó la maceración de las muestras utilizando un procesador de alimentos 1-2-3 marca IMUSA (Colombia), se midió el pH a cada una de las mezclas de hortalizas evaluadas y en ambos materiales de envase, según la NTC 440:2015 ⁶⁴

Medición de actividad respiratoria: A las muestras almacenadas a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ se les midió su composición gaseosa diariamente, utilizando un analizador de gases Chek Point O₂ (PBI Dansensor. Mocon Europe A/S Dansensor Ringsted, Dinamarca), adaptando una cinta adhesiva doble faz 3M, según la metodología descrita por Fonseca, 2002 ⁶⁵.

3.1.5.4 Evaluación sensorial

Se llevó a cabo una prueba descriptiva cuantitativa QDA utilizando la metodología de consenso y una escala estructurada de 10 puntos, según la NTC 3932:1996 ⁶⁶, con siete jueces entrenados; considerando un valor de 6 puntos como criterio de fallo sensorial para los descriptores evaluados, bajo unas condiciones de temperatura de 22°C y 72% de humedad relativa.

3.1.6. Estimación de vida útil sensorial

3.1.6.1. Prueba hedónica con consumidores

Se eligió la mezcla que tuvo mayor puntaje global en el tiempo durante el estudio de estabilidad (Mezcla A), y se llevó a cabo una prueba de vida útil sensorial utilizando un diseño parcialmente escalonado, según la ASTM E2454 – 19, se establecieron 5 tiempos de almacenamiento⁶⁷. Según la ASTM, se deben considerar mínimo 4 puntos de evaluación, teniendo en cuenta que los puntos de referencia y el punto final constituyen el 100% de la vida útil. El punto inicial o tiempo cero se estableció pasado 1 día de almacenamiento, el tiempo final o punto de fallo, se estableció pasados 10 días almacenamiento, constituyendo así el 100% de la vida útil. A partir de estos dos tiempos,

se fijaron dos tiempos intermedios, el primero pasados 3 días para el 30% y el segundo pasados 6 días para el 60%. Se fijó además un tiempo adicional, luego del punto de fallo, de 13 días, que corresponde a un 130%. Se llevó a cabo una prueba hedónica con consumidores en espacio controlado según la GTC 292 ⁶⁸. A quienes se les presentó 5 muestras de la mezcla A, las cuales diferían en sus tiempos de almacenamiento. Se encuestaron 41 consumidores de los cuales 17 fueron hombres y 24 mujeres, con una frecuencia de consumo de hortalizas entre 3 y 4 veces a la semana. Se les preguntó a los consumidores su aceptabilidad en cuanto al nivel de frescura, se utilizó una escala hedónica de 7 puntos donde 1 es me disgusta mucho y 7 me gusta mucho; además, se les preguntó si consumirían o no el producto, según la metodología descrita por Guillermo Hough ⁶⁹. Los códigos de las muestras fueron aleatorizados en Microsoft Excel 2016. La prueba se llevó a cabo en Laboratorio de Análisis Sensorial de los Alimentos; a unas condiciones de temperatura de 22°C y 69% humedad relativa.

3.1.6.2. Prueba sensorial con jueces entrenados

La prueba con panel se realizó con 7 jueces entrenados, a la mezcla con mayor puntaje global (Mezcla A), al igual que la prueba con consumidores, utilizando una escala estructurada de 10 puntos donde 0 es ausencia y 10 muy marcado. Se les presentó a los jueces las mismas muestras que a los consumidores y se les pidió que calificaran la muestra en cuanto a nivel de Frescura. La prueba se llevó a cabo a unas condiciones de temperatura de 22°C y 69% humedad relativa.

3.1.6.3. Determinación del punto de corte

Los datos de jueces y consumidores para la mezcla con mayor tiempo de estabilidad (Mezcla A) se introdujeron en la herramienta Análisis de datos de Microsoft Excel 2016, y a través de una tabla ANOVA se obtuvieron los promedios acumulados y el cuadrado medio del error (MSE). Los promedios de jueces y consumidores se graficaron en el programa Microsoft Excel 2016 y se determinó el punto de corte por extrapolación, a partir del cálculo de *S*.

$$S = F - Z_{\alpha} \sqrt{\frac{2MSE}{n}}$$

Donde S es el valor bajo el cual la aceptabilidad sensorial del producto se reduce significativamente, basándose en una escala de aceptabilidad de 1 a 7. F es la aceptabilidad de la muestra fresca. Z_{α} es el estadístico de prueba de la curva normal para un nivel de significancia de 0,05. MSE es el cuadrado medio del error derivado del análisis de varianza de los datos de los consumidores y n es el número de consumidores.

3.1.7. Análisis por cromatografía de gases

Las muestras envasadas en las bolsas de biopolímero comercial (Natureflex™ NKA) fueron acondicionadas con una cinta adhesiva doblez faz para introducir el analizador Cuadrupolo /QTOF de cromatógrafo de gases Agilent 6890N, el cual estaba acoplado a un espectrómetro de masas 6545 Q-TOF (Agilent). Cada una de las muestras se dejó sensando durante 25 minutos, y se usó un blanco antes de iniciar las mediciones, el cual consistía en una bolsa de biopolímero comercial (Natureflex™ NKA) vacía y correctamente sellada.

4. RESULTADOS – ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Características sensoriales hortalizas










<p>Rúgula <i>Eruca vesicaria</i> Var. <i>sativa</i></p> <p>Apariencia: Aterciopelada, húmeda</p> <p>Olor: Herbal, amargo, picante en nariz, bosque, musgo, húmeda, refrescante en nariz</p> <p>Sabor: Amargo, picante en nariz y en boca, herbal, dulce, tabacal, verde, vegetal</p> <p>Textura: Fibrosa, masticable, húmeda</p> <p>Familia: Brassicaceae</p> <p>Procedencia: La ceja</p> <p>Color: 133TPX</p> 	<p>Kale <i>Brassica oleracea</i> Var. <i>sabellica</i></p> <p>Apariencia: Rizada, tonalidades verdes oscuras, nervaduras acentuadas</p> <p>Olor: Salino, amargo, herbal, rábano, col, vegetal cocido</p> <p>Sabor: Dulce, amargo, salino, picante, metálico, herbal, tabacal</p> <p>Textura: Masticable, fibrosa, húmeda</p> <p>Familia: Brassicaceae</p> <p>Procedencia: Envigado, Antioquia</p> <p>Color: 230 TPX</p> 	<p>Repollo <i>Brassica oleracea</i> Var. <i>capitata</i></p> <p>Apariencia: Irregular, rugoso, húmeda, brillante, blanco</p> <p>Olor: Vegetal, salino, dulce, amargo, herbal, mineral</p> <p>Sabor: Amargo, dulce, vegetal, azufrado, floral, sensación astringente, picante</p> <p>Textura: Duro, fibroso, masticable, crujiente, húmeda</p> <p>Familia: Brassicaceae</p> <p>Procedencia: Envigado, Antioquia</p> <p>Color: 205TPX</p> 
<p>Lechuga romana <i>Lactuca sativa</i> Var. <i>longifolia</i></p> <p>Apariencia: Tonalidades verdes, húmeda, aterciopelada</p> <p>Olor: Arveja desgranada, olor vegetal, herbal, pasto recién cortado</p> <p>Sabor: Dulce, herbal, salino, amargo</p> <p>Textura: Crujiente, fibroso, húmedo</p> <p>Familia: Asteráceas</p> <p>Procedencia: Envigado, Antioquia</p> <p>Color: 235 TPX</p> 	<p>Lechuga crespa <i>Lactuca sativa</i></p> <p>Apariencia: Húmeda, irregular, tonalidades verdes, opaca</p> <p>Olor: Vegetal, herbal, verde, salino, amargo, pasto recién cortado</p> <p>Sabor: Amargo, vegetal, dulce, salina.</p> <p>Textura: Crujiente, fibroso, masticable, húmeda</p> <p>Familia: Asteráceas</p> <p>Procedencia: La ceja, Antioquia</p> <p>Color: 226 TPX</p> 	<p>Tomate Cherry <i>Solanum lycopersicum</i></p> <p>Apariencia: Redondo, brillante, tonalidades naranjas, rojizas</p> <p>Olor: Dulce</p> <p>Sabor: Ácido, dulce, herbal, floral, frutal, salino, sensación picante, metálico, umami</p> <p>Textura: Crujiente, arenoso, fibroso, húmedo</p> <p>Familia: Solanáceas</p> <p>Procedencia: Envigado, Antioquia</p> <p>Color: 276TPX</p> 
<p>Zanahoria <i>Daucus carota</i></p> <p>Apariencia: Húmeda, fibrosa, tonalidades naranjas-amarillas</p> <p>Olor: Dulce, vegetal, amargo, floral, salino, terroso, herbal</p> <p>Sabor: Amargo, dulce, vegetal, floral, mineral, sensación astringente y picante</p> <p>Textura: Dura, fibrosa, húmeda, fructurable, masticable, jugosa, fructurable</p> <p>Familia: Umbelífera</p> <p>Procedencia: La unión, Antioquia</p> <p>Color: 87TPX</p> 	<p>Espinaca <i>Spinacia oleácea</i></p> <p>Apariencia: Aterciopelada, húmeda con tonalidades verdes</p> <p>Olor: Verde, pasto recién cortado, mango, ciruela verde, herbal, ácida, amarga</p> <p>Sabor: Amargo, herbal, salino, metálico, dulce, umami, sensación astringente y picante, terroso</p> <p>Textura: Fibrosa, crujiente, áspera, masticable, húmeda.</p> <p>Familia: Amaranthaceae</p> <p>Procedencia: Marinilla, Antioquia</p> <p>Color: 235 TPX</p> 	<p>Remolacha <i>Beta vulgaris</i></p> <p>Apariencia: Circular, opaca, tonalidades moradas, granate, fucsia</p> <p>Olor: Dulce, terroso, vegetal, salino</p> <p>Sabor: Dulce, terroso, vegetal, salino, floral, sensación picante</p> <p>Textura: Dura, fructurable, fibrosa, húmeda, masticable</p> <p>Familia: Amaranthaceae</p> <p>Procedencia: Envigado, Antioquia</p> <p>Color: 167TPX</p> 

Figura 5 Ficha técnica sensorial de las hortalizas evaluadas

La figura 5, muestra la ficha técnica sensorial de las hortalizas evaluadas. Se observan los atributos, apariencia, olor, sabor, textura y color según carta de color Pantone. En la familia de las *Brassicaceae*, donde se encuentran el repollo, la rúgula y el kale, los jueces percibieron notas altas de olores herbales, sensación picante, y sabores amargos acentuados. En 2011, Pasini F. y colaboradores, evalúan una ensalada con dos variedades de rúgula y encuentran que el sabor amargo está fuertemente asociado con el contenido de glucosinolatos específicos como la epiprogoitrina y la glucosativina dimérica. La pungencia, por su parte, está relacionada en mayor medida con el contenido de glucosinolatos totales. En este mismo estudio, se encontró que el Kaempferol-3-(2-sinapoyl-glucoside)4'-glucoside está relacionado positiva y significativamente con todas las percepciones de rasgos de sabor en este tipo de ensalada, tales como sabor amargo, olor herbal y pungencia ⁷⁰. Los glucosinolatos son metabolitos secundarios de las *Brassicaceae*, que se hidrolizan por acción de la mirosinasa, generándose compuestos que se caracterizan por ofrecer sabores amargos y azufrados como los nitrilos, isotiocianatos, y tiocianatos; además, estos compuestos actúan en la planta como mecanismos de defensa ⁷¹. El olor vegetal por su parte, también encontrado en la familia de las *Brassicaceae* está relacionado con el trisulfuro de dimetilo ⁷².

Dentro de la familia de las *Asteraceae* se encuentran la lechuga romana y la lechuga crespa. En éstas los jueces también encontraron un alto sabor amargo. Aunque este sabor puede deberse también a los glucosinolatos, en 1990 Price K.R. y colaboradores relacionaron las características sensoriales de ensaladas de hojas de lechuga romana con la composición química, y encontraron que el sabor amargo también puede estar asociado con el contenido de sesquiterpenos. Los investigadores evaluaron la correlación del sabor amargo con algunos compuestos sesquiterpénicos y encontraron valores por encima del 60% en compuestos como Lactocupricina glicósido y 8-Deoxylactucina, y valores del 80% en compuestos como el lactucin glicósido ⁷³. Otros descriptores encontrados como el olor a pasto recién cortado o heno se relaciona con el 3-Methyl 2,4 nonanodiona y el olor herbal y olor verde a compuestos como el 2-hexenal, 3-hexenal-1-ol y hexyl alcohol ⁷².

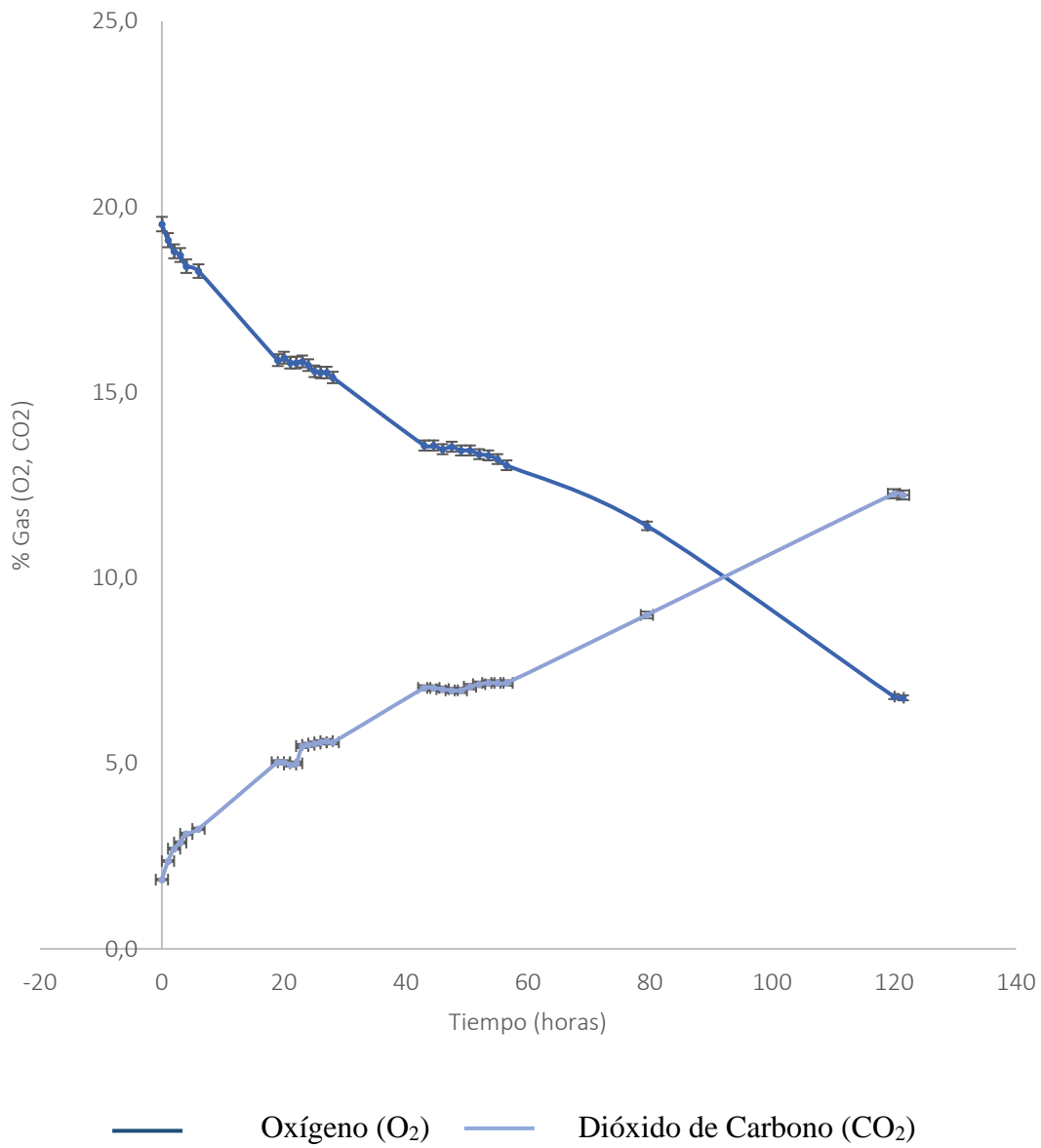
Entre la familia de las *Amaranthaceae* como la espinaca y la remolacha, se encuentran compuestos como la geosmina y el 2-methoxy-3-(5-6)-isopropilpirazina; que están asociados con el olor terroso encontrado por los jueces, según la ficha técnica. En la espinaca se encuentran altos sabores

salinos, lo cuales están relacionados a los oxalatos éstos son sintetizados a través de la oxidación incompleta de los carbohidratos ⁷².

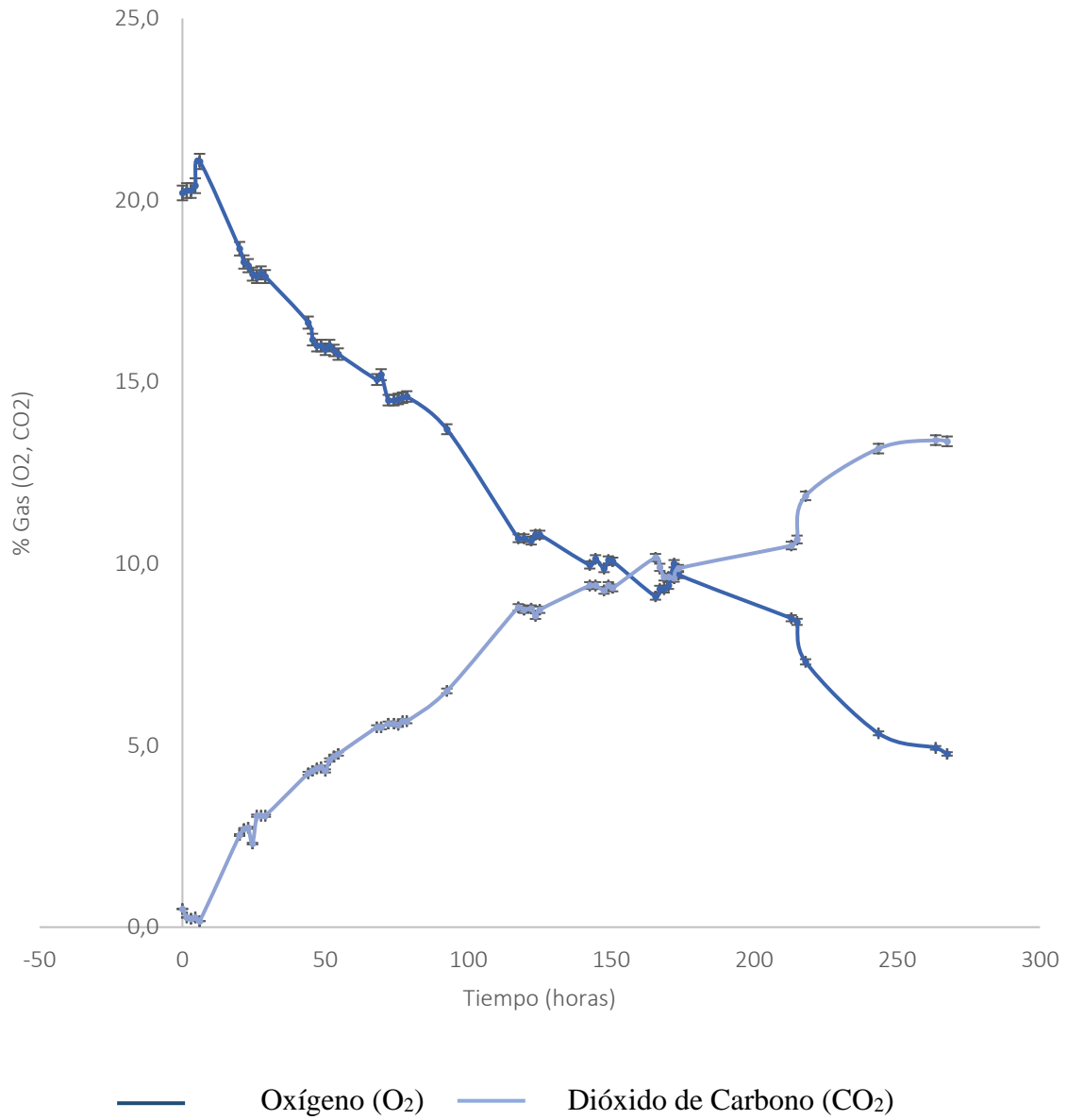
El tomate cherry, de la familia de las *Solanáceas*, presentó notas dulces y olores florales, que están relacionadas con compuestos como el Acetanisol, alcohol anisílico, acetona, γ -butirolactona y el propionato de citronelilo ⁷². El sabor umami, muy característico en este fruto, tiene una alta relación con el ácido glutámico. En 2007, investigadores en reino unido, encontraron que existe una relación por encima del 90% del sabor umami con el ácido glutámico ⁷⁴.

La zanahoria, perteneciente a la familia de las *Umbelíferas*, presentó altos sabores amargos, los cuales están relacionados con la presencia de poliacetileno, isocumarinas y ácidos fenólicos. Estos últimos aportan sustancias amargas debido a su estructura cíclica y sus terminaciones en grupos fenólicos⁷⁵. Por su parte, el sabor picante en la zanahoria, está relacionado con el B-cariofileno⁷².

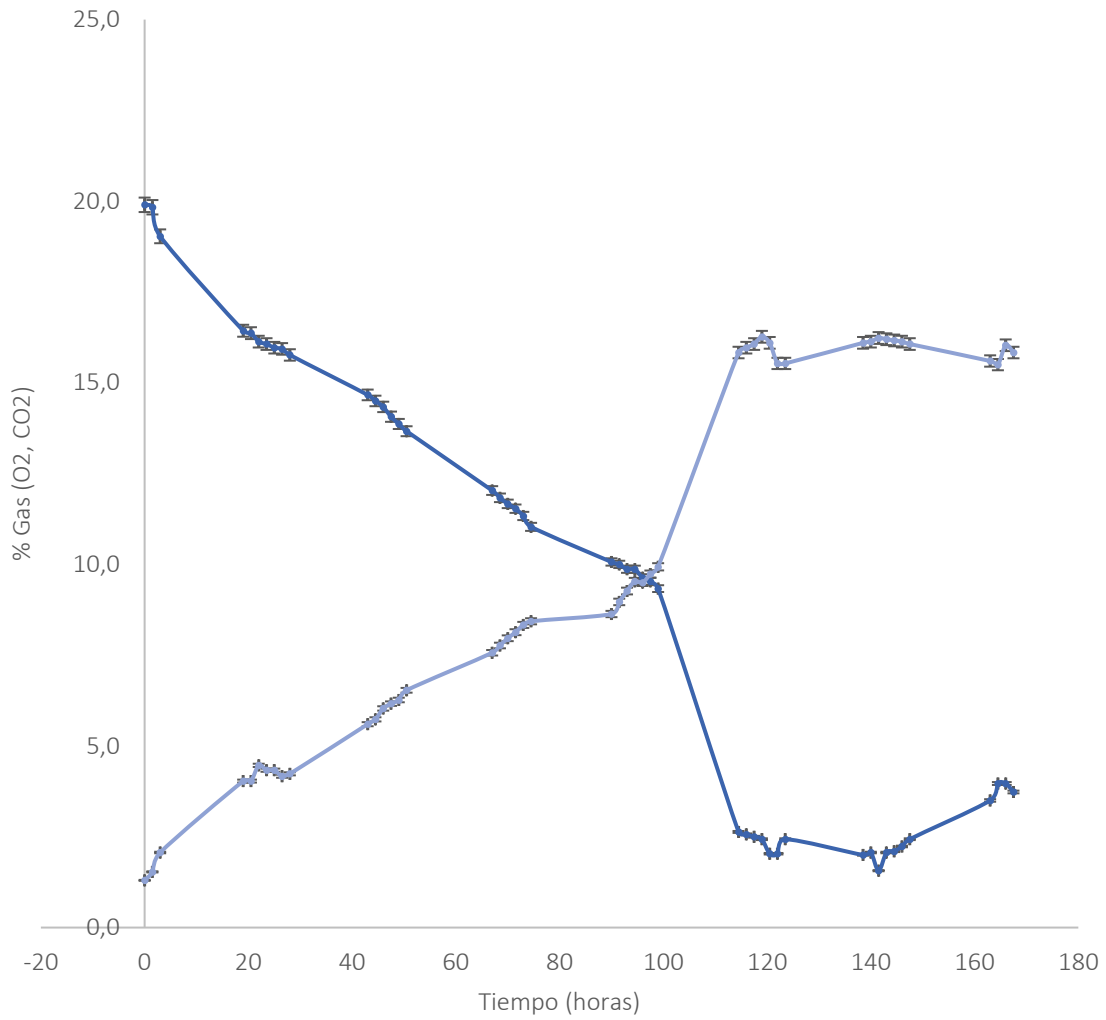
4.2. Actividad respiratoria hortalizas



6a). Tomate Cherry (*Solanum lycopersicum*),

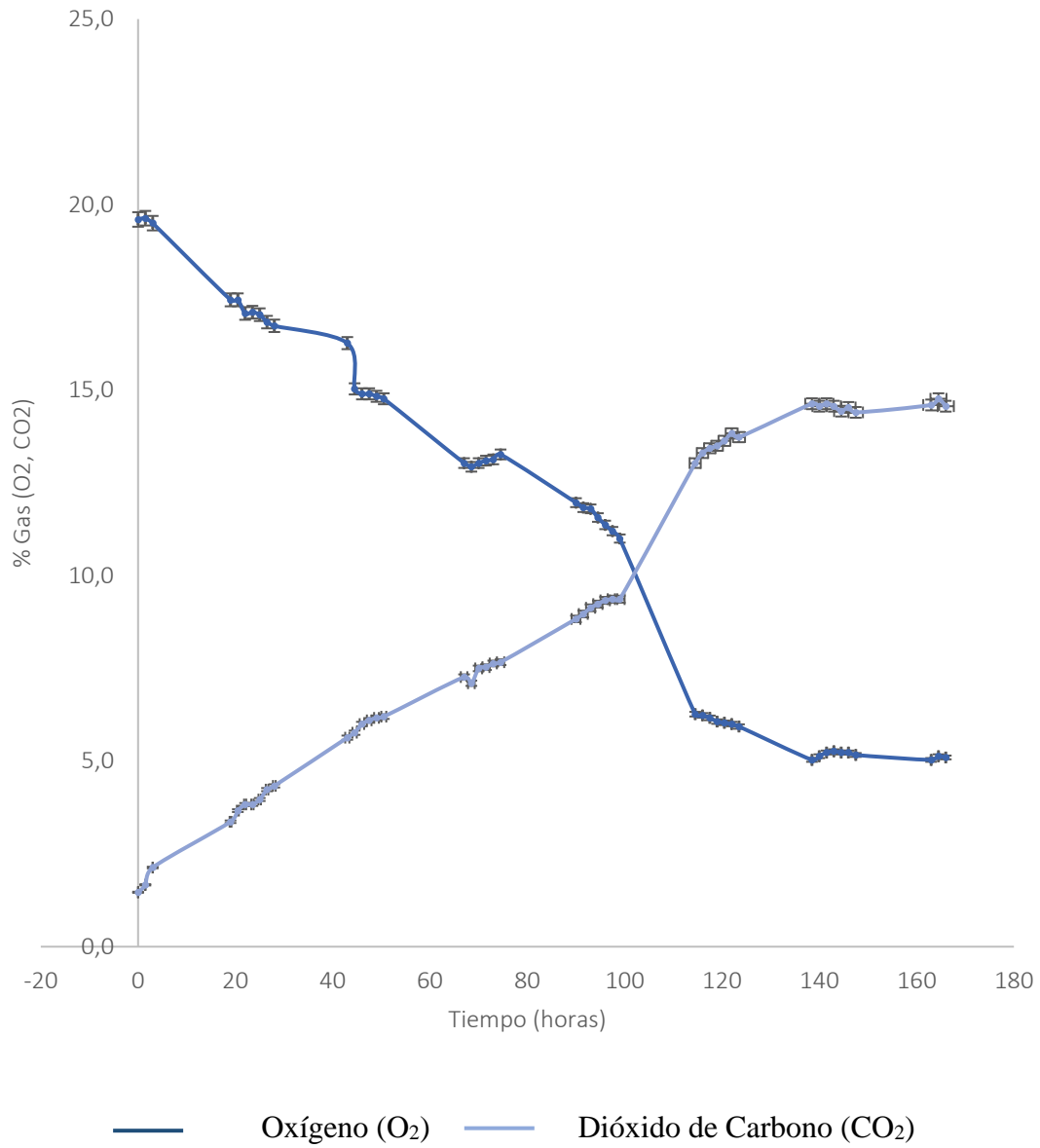


6b). Kale (*Brassica oleracea*)

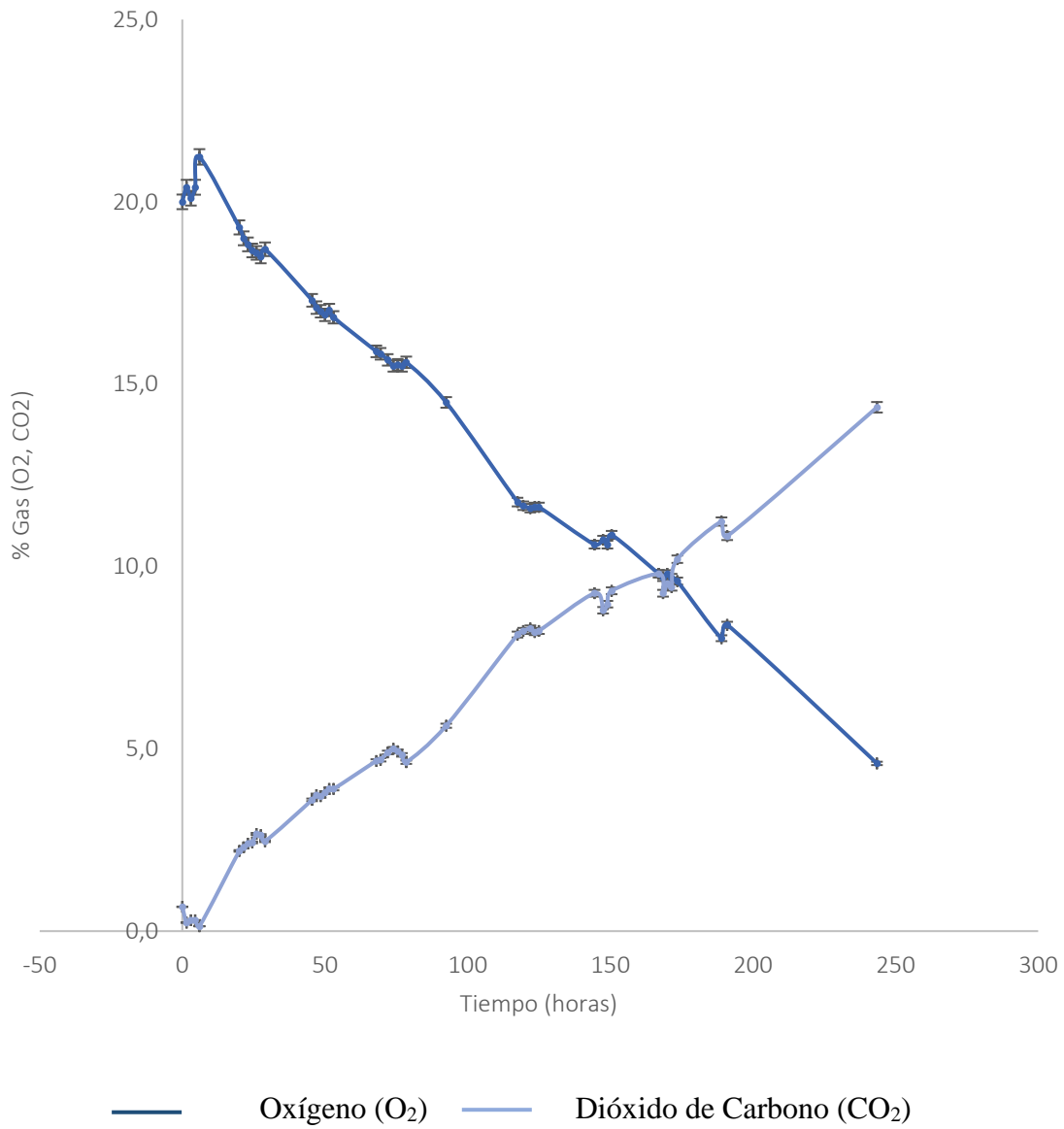


— Oxígeno (O₂) — Dióxido de Carbono (CO₂)

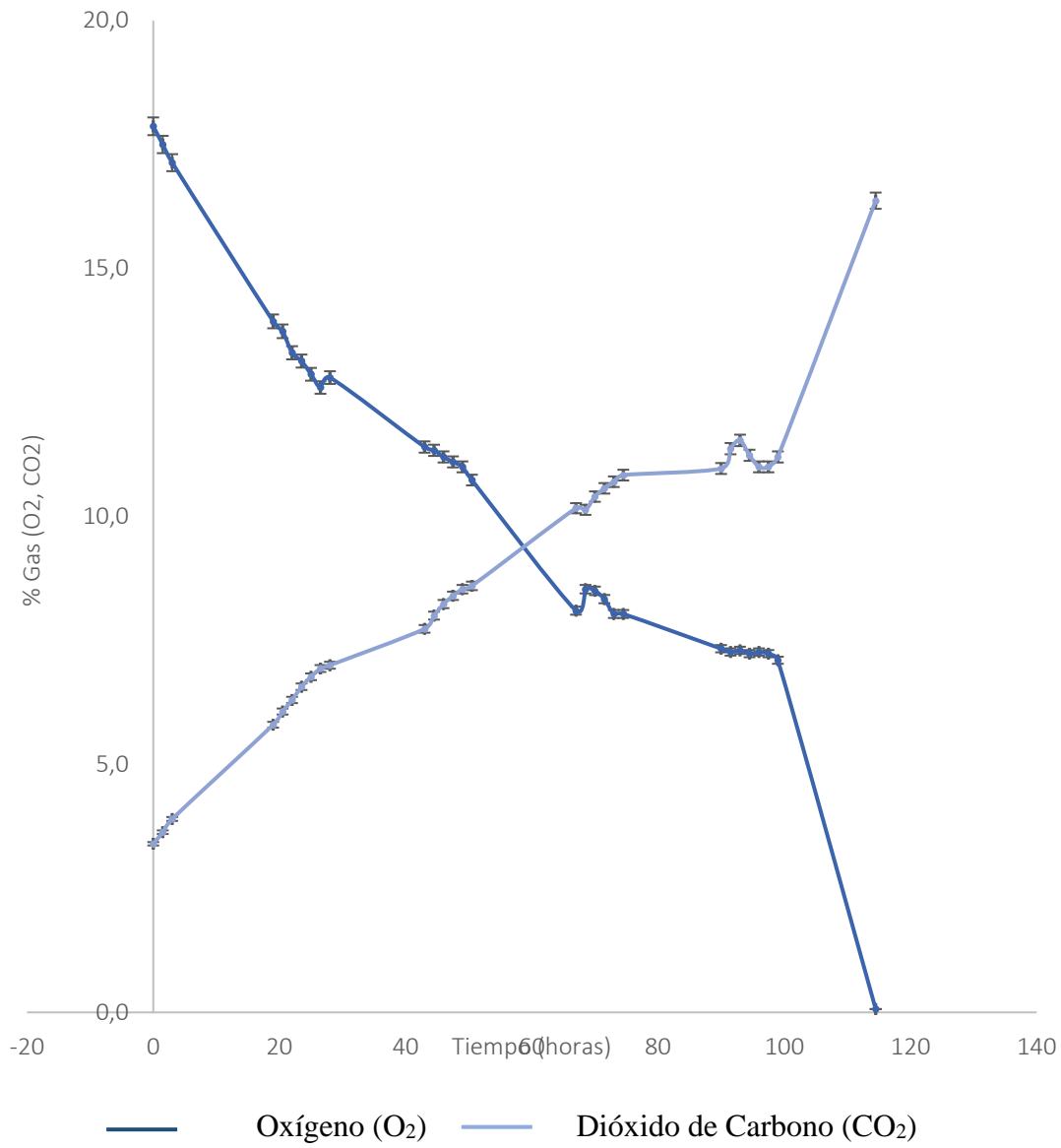
6c). Zanahoria (*Daucus carota*)



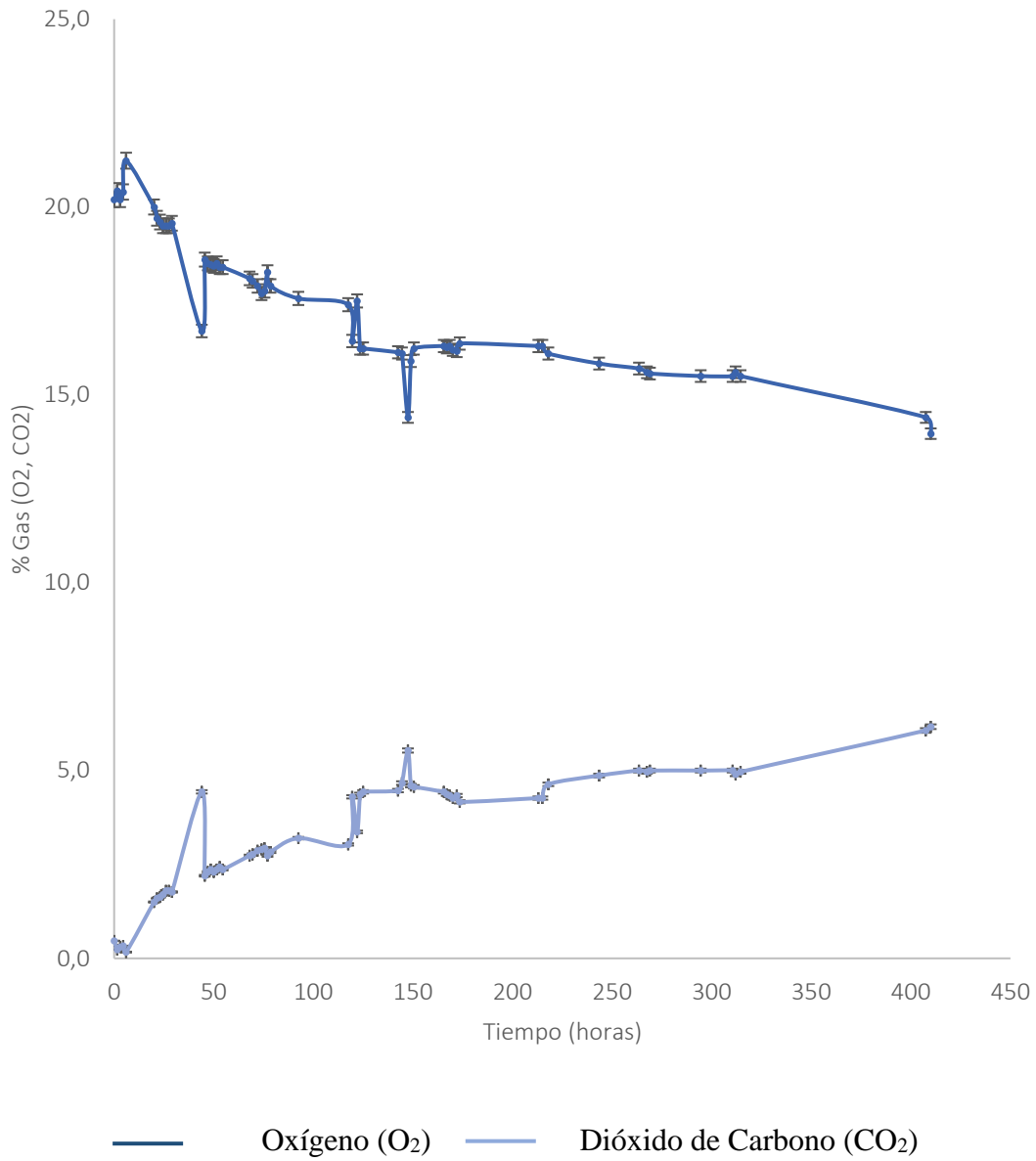
6d). Repollo (*Brassica oleracea. var. capitata*)



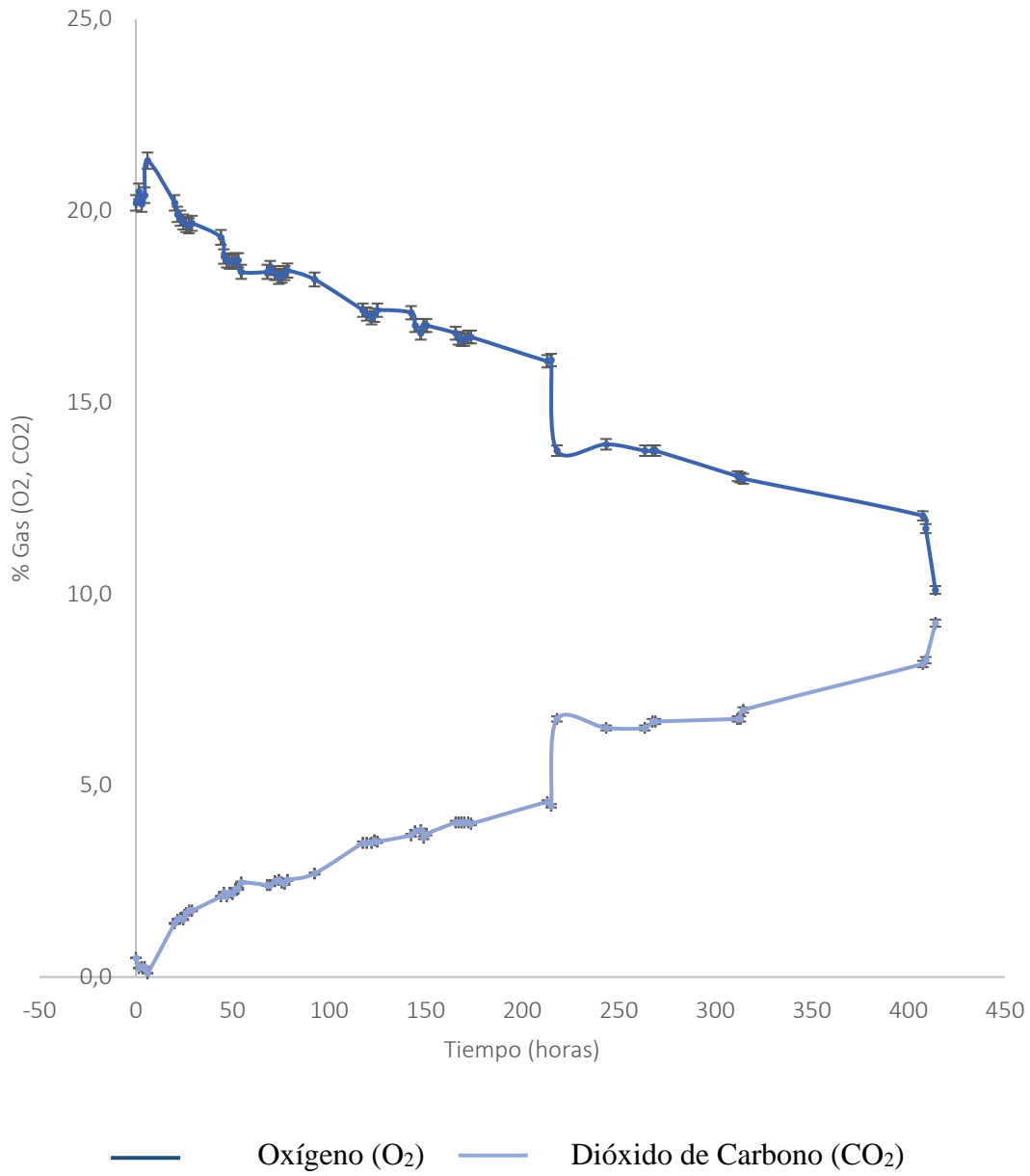
6e). Rúgula (*Eruca vesicaria* Var. *sativa*)



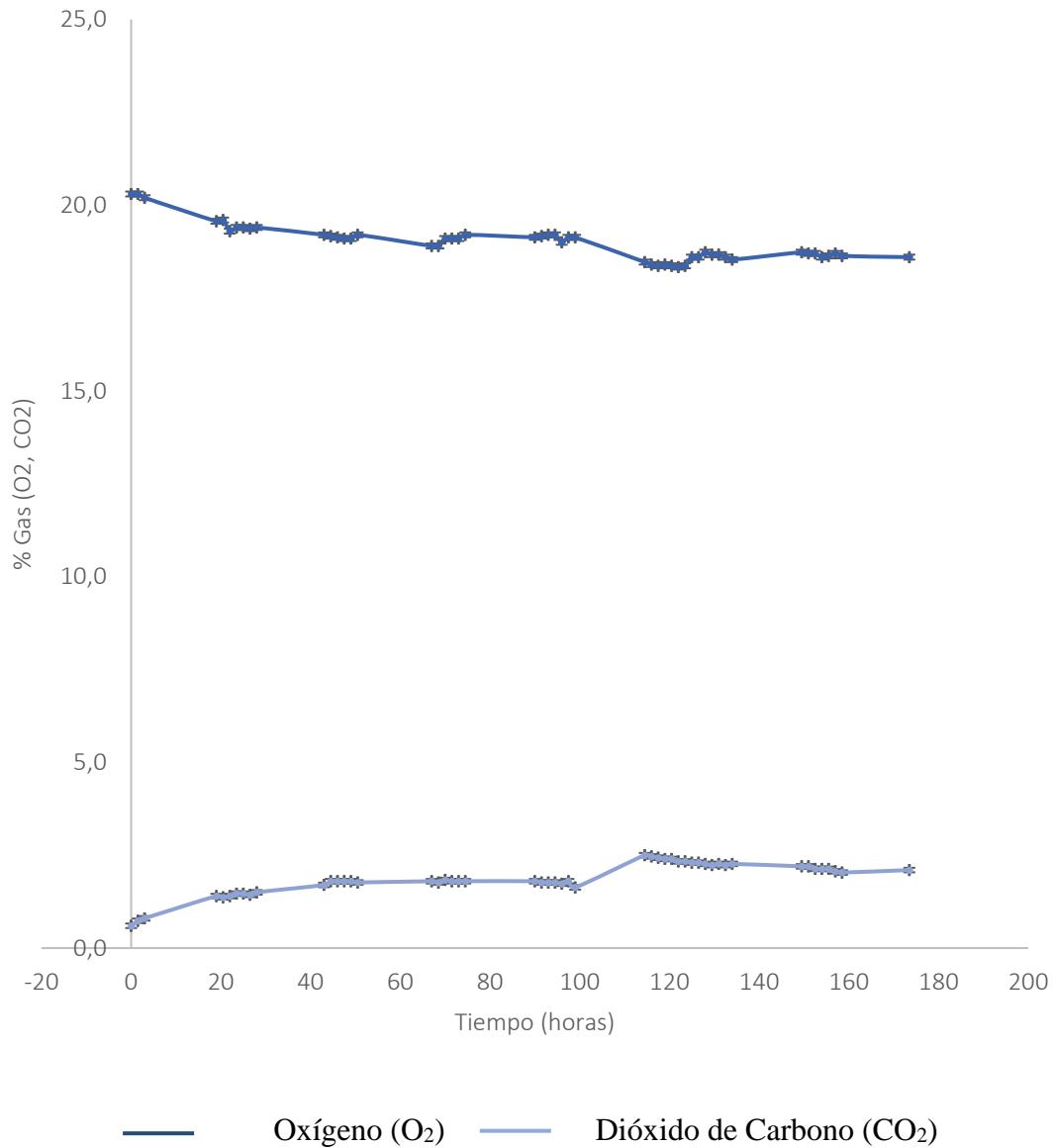
6f). Remolacha (*Beta vulgaris*)



6g). *Espinaca (Spinacia oleracea)*



6h). Lechuga crespa (*Lactuca sativa* subsp. *crispa* L.)

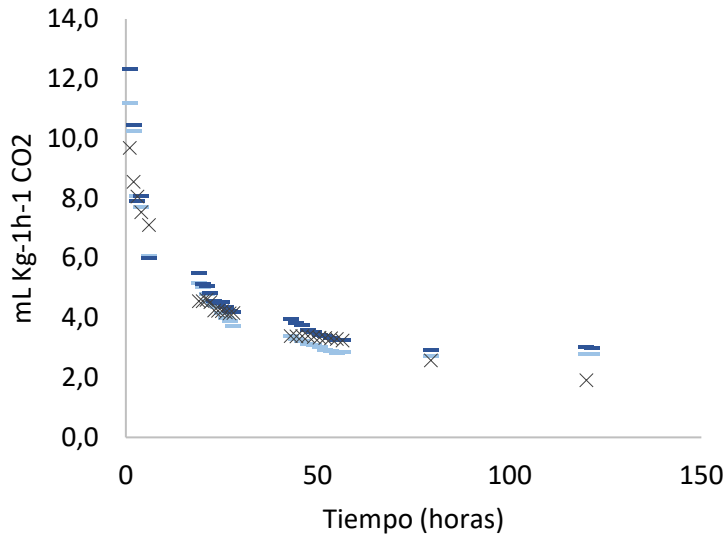


6i). Lechuga romana (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

Figura 6 Concentraciones (%) de oxígeno y dióxido de carbono de nueve hortalizas (6a, 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, 6g, 6h, 6i) en el tiempo, a 3 ± 1 °C y 95% humedad relativa. Cada punto en las gráficas corresponde al promedio de tres mediciones.

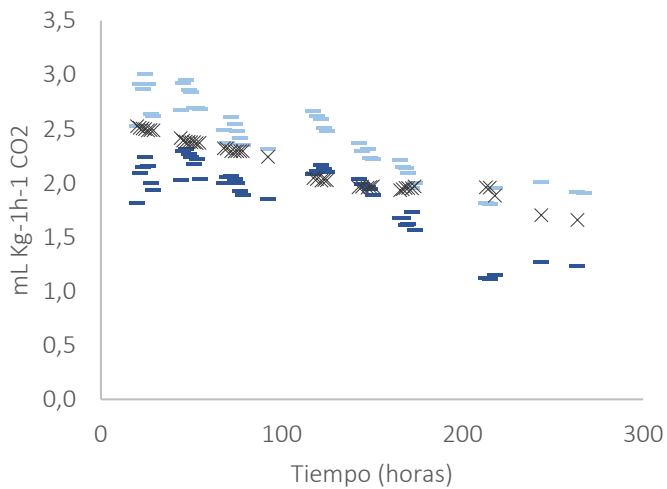
Los porcentajes de oxígeno y dióxido de carbono en el transcurso del tiempo se representan en la figura 6 (6a, 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, 6g, 6h, 6i), donde se observa la disminución del contenido de oxígeno y el aumento en la producción de dióxido de carbono entre 100 y 400 horas de almacenamiento. Este comportamiento hace referencia a una reacción que involucra un tipo de respiración aeróbica, en la cual existe un proceso metabólico que conlleva al consumo de oxígeno y al aumento en la producción de dióxido de carbono a través de los estomas ⁷⁶. Diversos autores han evaluado el comportamiento respiratorio de algunos vegetales en el tiempo. En 2017, Pereira M.J. y colaboradores obtuvieron resultados similares, pasando de 19 a 5 Kpa de O₂ y de 0.1 a 12 Kpa de CO₂ en el transcurso de 110 horas de almacenamiento para hojas de rúgula, encontrando que efectivamente hay una disminución en el contenido de oxígeno y un aumento en la producción de dióxido de carbono al cabo de 110 horas de medición ⁷⁷. En 2012, Seefeldt H.F. y colaboradores también evaluaron las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono en el tiempo para brócoli y encontraron el mismo comportamiento, pasando de 20 a 5 KPa de O₂ y de 0 a 10 KPa de CO₂ con mediciones hasta las 25 horas ⁷⁸. Ambos ensayos se realizaron bajo la metodología de sistema cerrado, igual a la utilizada en el presente estudio.

4.3. Tasa de Respiración y ajuste Michaelis Menten



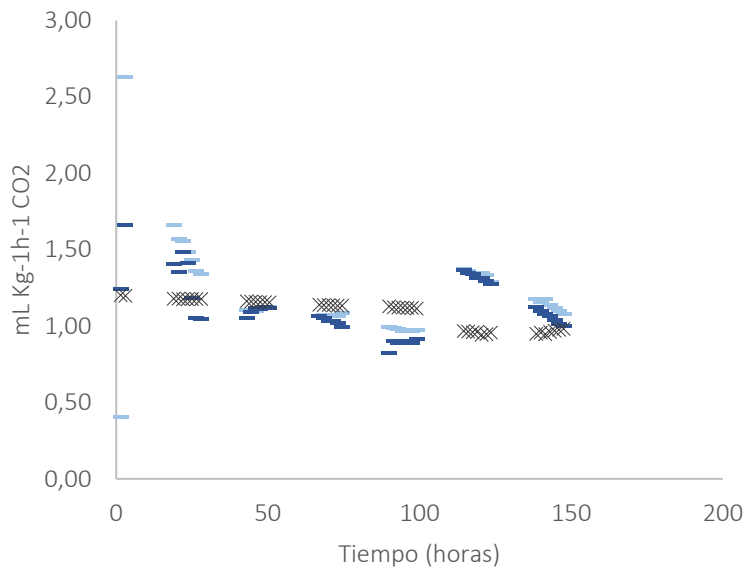
7a). Tomate Cherry (*Solanum lycopersicum*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



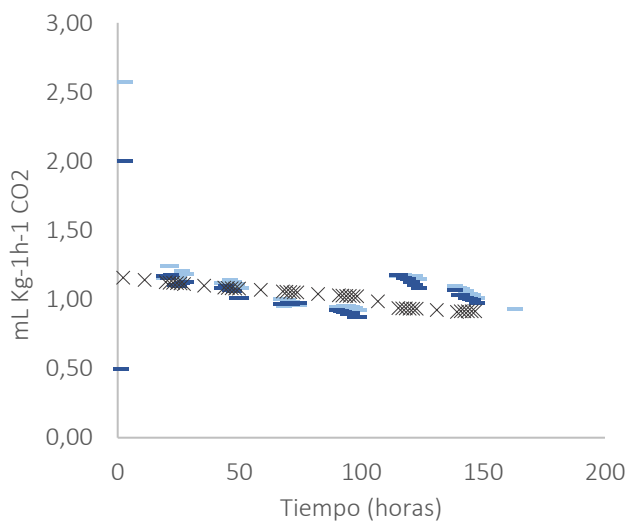
7b). Kale (*Brassica oleracea*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



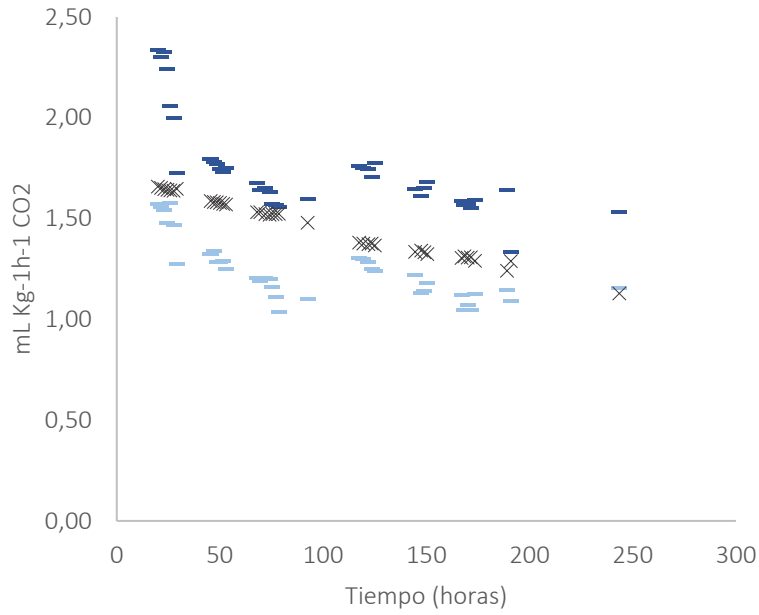
7c). Zanahoria (*Daucus carota*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



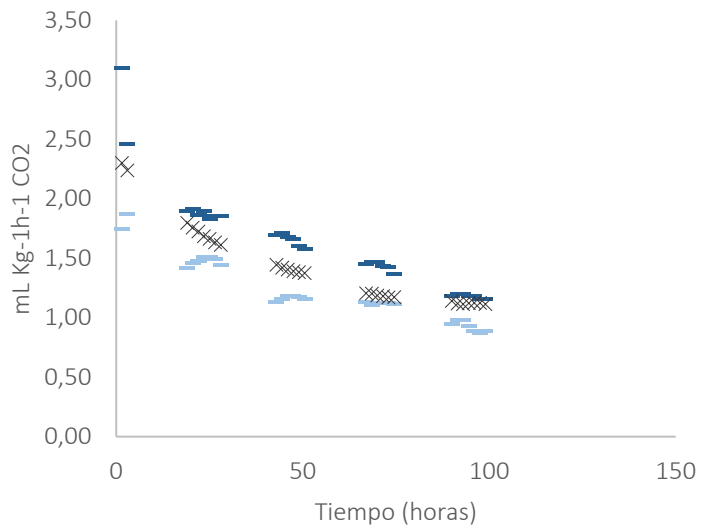
7d). Repollo (*Brassica oleracea. var. capitata*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



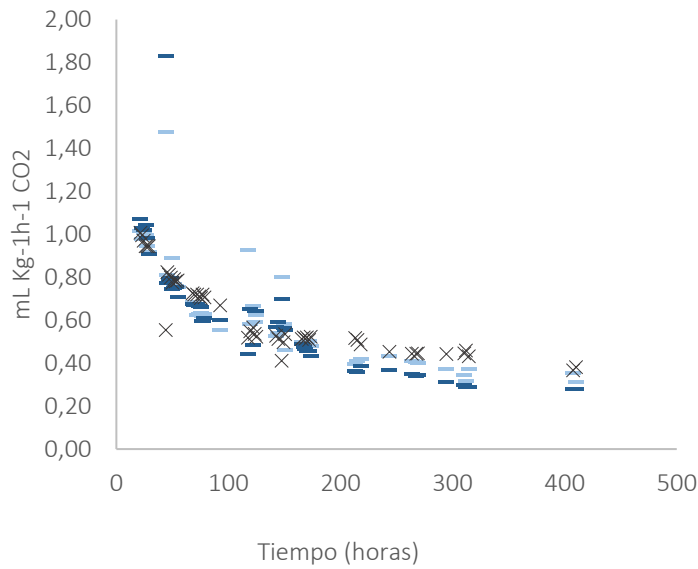
7e). Rúgula (*Eruca vesicaria* Var. *sativa*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



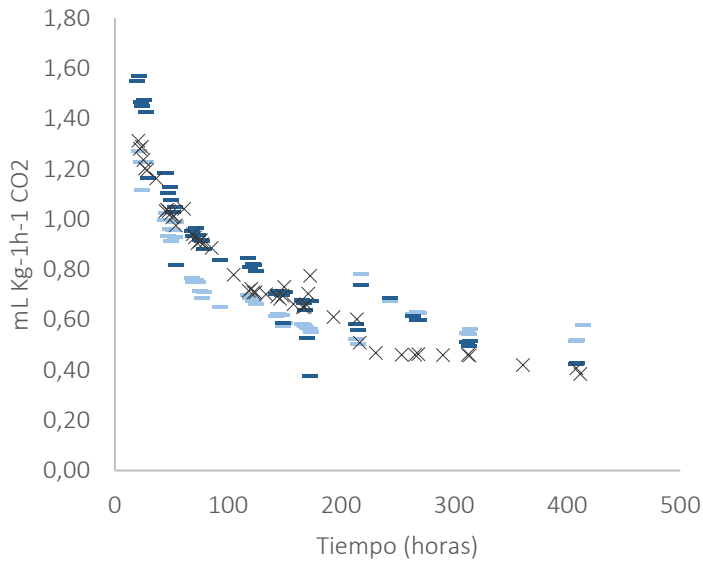
7f). Remolacha (*Beta vulgaris*)

— RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 1 — RCO₂ (mL Kg⁻¹h⁻¹) Réplica 2 x Ajuste



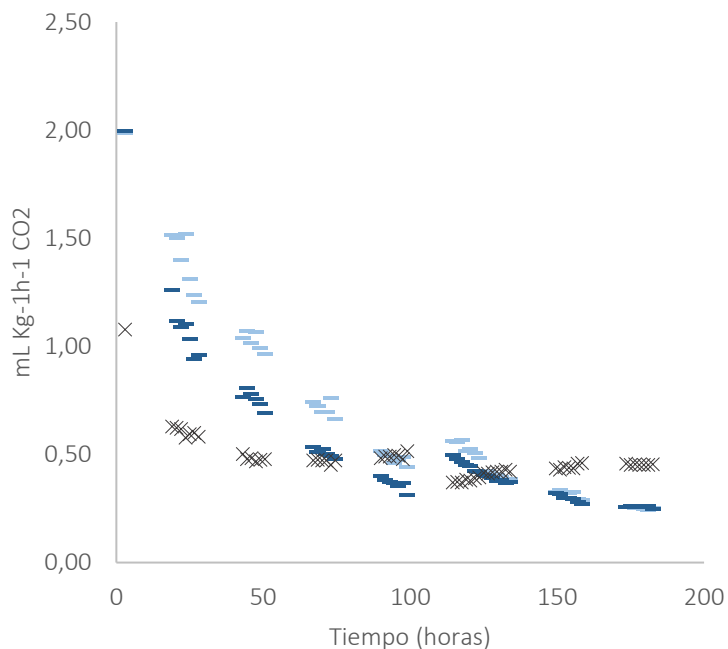
7g). *Espinaca (Spinaca oleracea)*

— RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 1 — RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 2 x Ajuste



7h). *Lechuga crespa (Lactuca sativa subsp. crispa L.)*

— RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 1 — RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 2 x Ajuste



7i). Lechuga romana (*Lactuca sativa L. var. longifolia*)

— RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 1 — RCO_2 ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) Réplica 2 x Ajuste

Figura 7 Tasa de respiración de las nueve hortalizas (7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f, 7g, 7h, 7i), en función del dióxido de carbono a $3 \pm 1^\circ \text{C}$ y 95% humedad relativa y ajuste al modelo cinético enzimático de Michaelis-Menten.

En la figura 7 se observa la tasa de respiración para cada vegetal, la cual se halló utilizando el modelo propuesto por Belay en 2016⁴, se muestran los datos experimentales de tasa de respiración calculada a partir de este modelo y su ajuste al modelo cinético de Michaelis-Menten. En general las tasas de respiración fueron significativamente altas para los primeros días del almacenamiento, decreciendo al final del mismo, estos resultados están de acuerdo a lo hallado por Islam M.Z. en 2012⁷⁹ quien evaluó el efecto de la temperatura sobre la calidad y almacenamiento de tomate tipo Unicorn, en condiciones comerciales. Islam M.Z. obtuvo resultados gráficamente muy similares, inclusive con evaluaciones a tres temperaturas, y concluyó que a medida que la tasa de respiración incrementa, también incrementa la producción de etileno en el material vegetal, en este caso, para el tomate, se lleva a cabo una fase de maduración. Es importante aclarar, que el tomate cherry

(figura 4a) fue la única hortaliza climatérica utilizada en este estudio, por tanto, fue la hortaliza que presentó una tasa de respiración mayor, esto debido a que el estado de maduración influye en la tasa de respiración y los componentes del sistema dérmico que afectan la difusión de los gases, tales como el desarrollo, la composición y el espesor de la cutícula, los tricomas y lenticelas. La maduración incrementa las temperaturas internas y a su vez la tasa de respiración, en respuesta a ello la concentración de dióxido de carbono interna incrementa, así como la concentración de oxígeno disminuye ⁸⁰.

En 2017, Pereira M.J. y colaboradores encuentran también una disminución en la tasa de respiración a lo largo del tiempo, pasando de 0.6 a 0.2 mmol Kg¹s⁻¹ aproximadamente luego de 50 horas de almacenamiento ⁷⁷, además, en los gráficos de tasa de respiración que reporta Pereira, se indica claramente una alta dispersión entre los datos, de manera muy similar a lo obtenido en este estudio. La literatura reporta que el comportamiento de la mayoría de los productos vegetales puede no ser constante o de manera ordenada, en lugar de esto, se presenta de manera aleatoria, debido a las condiciones de crecimiento, variedad, clima, y al gran número de factores fisiológicos implicados en los materiales vegetales, desde la siembra hasta la cosecha⁸⁰.

En la figura 4b se grafican los datos obtenidos para la tasa de respiración del kale en función del dióxido de carbono, a 4 °C y 95% HR. En general se observa una disminución de la misma entre las 0 a las 255 horas de almacenamiento. Los datos concuerdan con lo hallado por Pereira M.J. en 2017 ⁷⁷, quien calculó las tasas de respiración para hojas de rúgula, utilizando cuatro diferentes valores de presiones parciales y reporta una disminución de la tasa de respiración para el material vegetal al cabo de 150 horas de almacenamiento, independiente del valor que toma la presión parcial de oxígeno.

La zanahoria, la cual se observa en la figura 4c, presenta un comportamiento con una tendencia constante con respecto a las dos hortalizas anteriores; sin embargo, también se observa una tendencia a la disminución transcurridas 150 horas de almacenamiento. En 2008, Iqbal y colaboradores evaluaron tres tipos de corte en zanahoria: entera, rodajas, y rallada, y encontraron que la tasa de respiración aumentó a medida que el corte fue más agresivo⁸¹. Los valores hallados por Iqbal para zanahoria después de 31,5 horas de almacenamiento a 4°C, en función del dióxido de carbono, fueron, entera =1,85 mL Kg⁻¹h⁻¹; rodajas= 3,60 mL Kg⁻¹h⁻¹ y rallada 3,39 mL Kg⁻¹h⁻¹. El valor de la zanahoria entera, fue muy similar al corte trabajado en el presente estudio (julianas).

Durante las operaciones de corte utilizadas para la preparación de productos frescos, la ruptura celular de las plantas induce a cambios fisiológicos, tales como el incremento de la tasa de respiración y el pardeamiento enzimático⁸². En la literatura se reportan algunos valores en cuanto a tasa de respiración de algunos vegetales cortados: Lechuga (*Lactuca sativa* subsp. *crispa* L.): 2.9 mL Kg⁻¹h⁻¹. Tomate (*Solanum lycopersicum*): 2.3 mL Kg⁻¹h⁻¹ y Zanahoria (*Daucus Carota*); 3.7 mL Kg⁻¹h⁻¹.; asimismo, se muestran algunos resultados de cociente respiratorio, similares a los determinados en esta investigación. Lechuga (*Lactuca sativa* subsp. *crispa* L.): RQ = 0.9 – 1.0 Tomate (*Solanum lycopersicum*): RQ = 0.7-1.3 Zanahoria (*Daucus Carota*); RQ = 0.8-0.9⁸³.

Cabe resaltar que durante la respiración se presenta una liberación de energía y agua a partir de la combinación controlada de oxígeno y otros compuestos que generalmente son azúcares, esta energía liberada en la respiración es utilizada en otras actividades metabólicas del material vegetal, o en su defecto en la pérdida de la misma en forma de calor⁸⁴. Otros sustratos orgánicos utilizados en este proceso pueden incluir carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos.

La tasa de CO₂ producido en relación al O₂ consumido, se conoce como cociente respiratorio (QR) y es usualmente igual a 1 si el sustrato metabólico utilizado para la respiración son los carbohidratos, si el sustrato es un lípido el cociente respiratorio es siempre menor a la unidad y si el sustrato es un ácido el cociente respiratorio es mayor a la unidad. Normalmente los rangos reportados en la literatura para el cociente respiratorio están entre 0.7 y 1.3 para una respiración aeróbica según Fonseca et al. (2002)⁶⁵, Pereira et al. (2017)⁷⁷ y Iqbal et al. (2008)⁸¹.

Tabla 4 Cociente respiratorio de las nueve hortalizas estudiadas, el cual indica el sustrato utilizado para llevar a cabo el proceso de respiración; donde: Carbohidratos = 1; lípidos menor a 1, ácidos orgánicos mayor a 1.

HORTALIZA	COCIENTE RESPIRATORIO (QR)
Tomate Cherry (<i>Solanum lycopersicum</i>)	0.8-1.1
Kale (<i>Brassica oleracea</i>)	1.0
Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)	0.8-0.9
Repollo (<i>Brassica oleracea</i> . var. <i>capitata</i>)	0.9-1.0
Rúgula (<i>Eruca vesicaria</i> Var. <i>sativa</i>)	0.9-1.0
Remolacha (<i>Beta vulgaris</i>)	0.7
Espinaca (<i>Spinaca oleracea</i>)	0.9-1.0
Lechuga crespa (<i>Lactuca sativa</i> subsp. <i>crispa</i> L.)	0.9-1.0
Lechuga romana (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>longifolia</i>).	0.9-1.0

En la tabla 4 se muestran los cocientes respiratorios para las hortalizas estudiadas a 3 ± 1 °C. Los datos son el resultado del cociente entre la tasa de respiración del dióxido de carbono y el oxígeno, tomando como valor, el promedio de tres mediciones de la actividad respiratoria.

Las hojas evaluadas: Kale (*Brassica oleracea*), Espinaca (*Spinaca oleracea*), Lechuga crespa (*Lactuca sativa* subsp. *crispa* L.) y lechuga romana (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) muestran un cociente respiratorio entre 0.9 y 1.0. Estos resultados indican que los sustratos utilizados para el proceso respiratorio de las hojas estudiadas fueron los carbohidratos y los lípidos, respectivamente. Es de anotar, que durante el inicio del almacenamiento el cociente respiratorio fue mayor, y empezó a disminuir y a variar a partir de las 77 horas aproximadamente. En algunas hortalizas, especialmente las lechugas, el valor de 0.9 después de las 77 horas se mantuvo constante, mientras que en la espinaca osciló entre 0.9 y 1.0 indistintamente.

En 1983, Azcón y colaboradores, evaluaron la tasa de respiración y cociente respiratorio en hojas de trigo y espinaca durante el día y la noche y midieron los contenidos de carbohidratos en ambos momentos, encontrando que el cociente respiratorio osciló entre 0.93 y 1.8.⁸⁵ y concluyeron que el nivel de carbohidratos disminuye durante la noche al igual que la tasa de respiración y los niveles

de consumo de oxígeno. Azcón afirma que el nivel de glucosa y fructosa disminuye durante un periodo de oscuridad, mientras que los niveles de estos azúcares no varían significativamente durante el día, esto puede explicar el comportamiento que se observa en la figura 3, donde los puntos indican las mediciones y las líneas rectas que los unen, indican el tiempo en el cual el producto estuvo en reposo, sin medición y en condiciones de oscuridad. En las líneas rectas se aprecia claramente un crecimiento o disminución más acentuada del porcentaje de los gases implicados, que en los puntos.

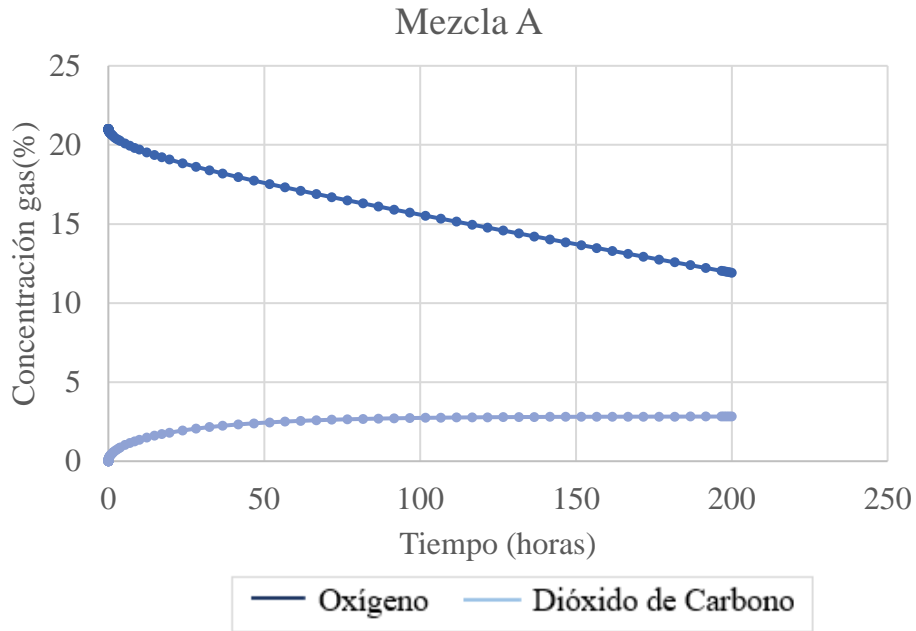
El valor de RQ entre 0.9 y 1.0 en las hojas hace referencia también a su composición química; las hojas tienen un alto contenido de terpenos y dentro de esta familia se incluyen los terpenos carotenoides y no carotenoides. La luteína hace parte de los terpenos carotenoides y pertenece a la familia de las xantofilas, es un compuesto que se encuentra en gran proporción en este tipo de hortalizas. El contenido de luteína en lechuga es de $2,635\mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ y en espinaca de $11,938\mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ⁸⁶. Los carotenoides o terpenos en general pueden incrementar si se presentan cortes, lesiones o daños físicos en las hojas, debido a que hacen parte del mecanismo de defensa de las plantas y son constituyentes volátiles mayoritarios en las hojas⁸⁵.

La zanahoria, obtuvo un valor de RQ entre 0.8 y 0.9, ubicándose por debajo de 1 al igual que la remolacha. Estos valores en zanahoria, fueron hallados también por Iqbal y colaboradores en 2008, quienes mediante un gráfico de interacción de efectos entre el cociente respiratorio y el tiempo, muestran que el valor de RQ no sobrepasa 0.9 después de 63 horas de almacenamiento; este valor fue hallado tanto para zanahoria entera como en rodajas y rallada⁸¹.

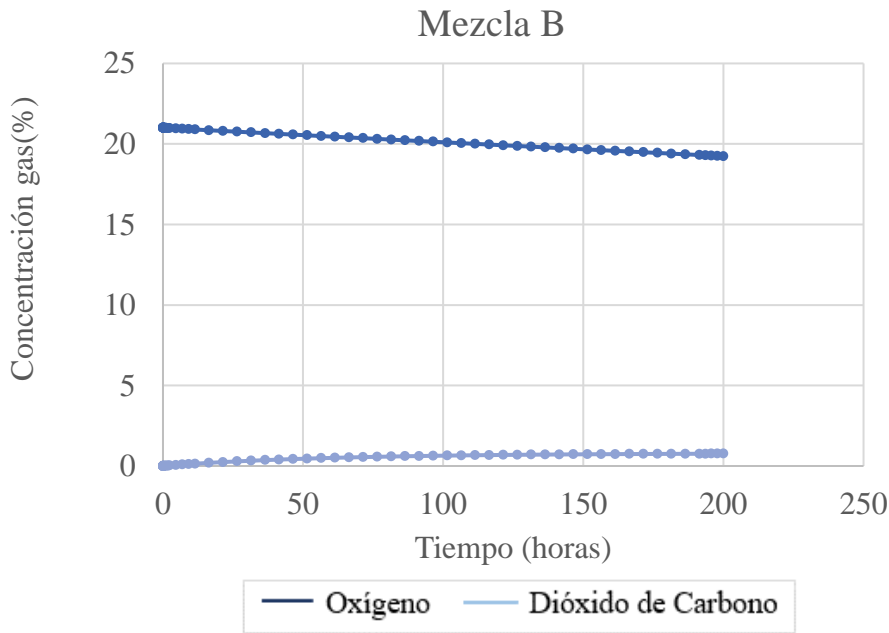
En numerosas investigaciones se resalta el alto contenido de B-carotenos presentes en zanahoria, los B-carotenos tienen un alto componente lipídico. En 1998 Rosenfeld y colaboradores investigaron el efecto de la temperatura sobre la calidad sensorial y la composición química en zanahoria, y encontraron que a 9 °C el valor de B-carotenos estuvo alrededor de 27.3mg Kg^{-1} . Este fue el valor más bajo reportado, el cual se encontró a la temperatura mínima evaluada por Rosenfeld (9 °C). A la temperatura máxima (21 °C), el valor hallado fue de 53.5mg Kg^{-1} ⁸⁷. De allí entonces, que la zanahoria utilizó la mayor parte del tiempo para su metabolismo, compuestos lipídicos.

El tomate cherry, fue la única hortaliza que presentó un RQ mayor a 1, lo cual quiere decir que parte de su proceso metabólico de respiración estuvo determinado por los ácidos orgánicos y en parte por los lípidos. El tomate cherry fue estudiado en 2007 por Oruna-Concha M.J. y colaboradores, quienes encontraron un valor de $RQ = 1.2^{74}$ El contenido de ácidos orgánicos en tomate generalmente es expresado como ácido ascórbico, el tomate cherry puede contener alrededor de $17.08 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de ácido ascórbico en el producto fresco ⁸⁸

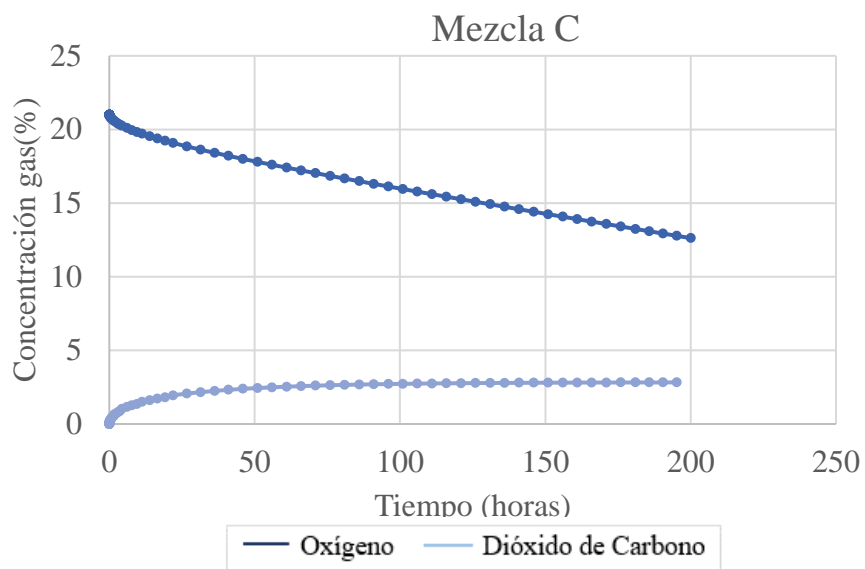
4.4 Proporción de gases para cada mezcla de hortalizas



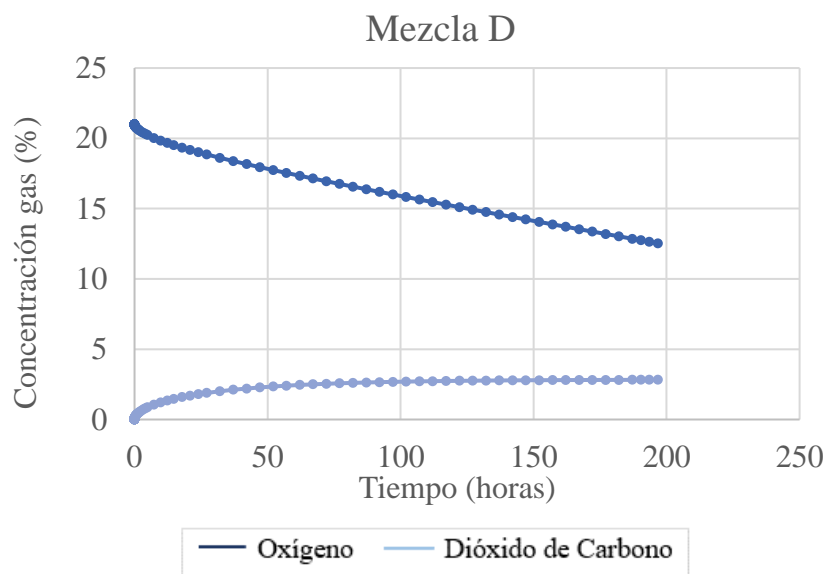
8a). Mezcla A: Kale, lechuga romana, tomate cherry.



8b). Mezcla B: Rúgula, repollo, lechuga crespá, zanahoria.



8c). Mezcla C: Lechuga cresa, zanahoria, tomate cherry, espinaca.



8d). Mezcla D: Lechuga romana, kale, remolacha, zanahoria, tomate cherry.

Figura 8 Concentraciones (%) de oxígeno y dióxido de carbono en equilibrio en el tiempo, para las cuatro mezclas de hortalizas mínimamente procesadas (8a, 8b, 8c, 8d), envasadas en el biopolímero comercial (Natureflex™ NKA)

Mezclas A, C y D =	O ₂ (%): 12,0-13,0	CO ₂ (%): 3,0 – 4,0
Mezcla B =	O ₂ (%): 18,0-19,0	CO ₂ (%): 1,0-1,5

En la figura 8, se muestran las concentraciones (%) de oxígeno y dióxido de carbono en equilibrio en el tiempo, para cuatro mezclas de hortalizas mínimamente procesadas, para ello se utilizó un biopolímero comercial (NatureflexTM NKA) con las características de permeabilidad expresadas en la tabla 2.

En general, para las mezclas de hortalizas A, C y D se observa que las concentraciones de oxígeno y de dióxido de carbono halladas a partir del sistema de ecuaciones diferenciales, son muy similares entre sí. El rango de oxígeno para lograr el equilibrio atmosférico estuvo entre 12,0 y 13,0% y el rango de dióxido de carbono entre el 3,0 y el 4,0%. Mientras que para la mezcla B se encontraron concentraciones muy cercanas a las condiciones atmosféricas, entre 18,0 y 19,0% de oxígeno y 1,0 a 1,5% de dióxido de carbono. Este resultado pudo deberse a que esta mezcla fue la única que no contenía tomate cherry en su composición, pues éste por sus características de fruto climatérico posee un proceso normal de maduración que va asociado al incremento en la producción de etileno, y por tanto a su tasa de respiración. La cual tiende a ser alta durante su pico de maduración⁸⁹. Para ambos gases, las concentraciones en equilibrio se obtuvieron al cabo de 200 horas de almacenamiento.

En el 2016, Castellanos y colaboradores modelaron las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono de tomate para un sistema de envasado con atmósfera modificada, utilizando 3 diferentes materiales de envase, Polipropileno (PP), Polietileno de baja densidad (LDPE), y Ácido polilactico (PLA), y encontraron que en los tres materiales el equilibrio para el dióxido de carbono se dio pasados los tres días de almacenamiento, mientras que el equilibrio en la concentración de oxígeno se dio entre el día 2 y el día 9⁹⁰.

En algunas investigaciones se utilizan modelos matemáticos similares a los usados en este estudio; en 1996 Lee y colaboradores diseñaron un sistema de envasado bajo atmósfera modificada para una mezcla de zanahoria, pepino, ajo en rodajas y pimiento verde; en este estudio el equilibrio de gases se dio pasados tres días de almacenamiento, utilizando polietileno de baja densidad LDPE⁵⁶.

En 2016, investigadores en Colombia, pertenecientes a la Universidad Nacional, modelaron la evolución de oxígeno y dióxido de carbono en atmósfera modificada aplicado a tomate. La tasa de

respiracion dentro del envase la calcularon utilizando la cinética enzimática de Michaelis-Menten, mientras que el intercambio de gases a través del film y las perforaciones, fueron descritas con la ecuacion de difusion de Fick. Pudieron observar que el equilibrio entre la tasa de respiracion y las permeabilidades de los film usados: Polipropileno PP, Polietileno de baja densidad LDPE, y Ácido polilactico PLA, se alcanza alrededor de los diez dias de almacenamiento⁹¹.

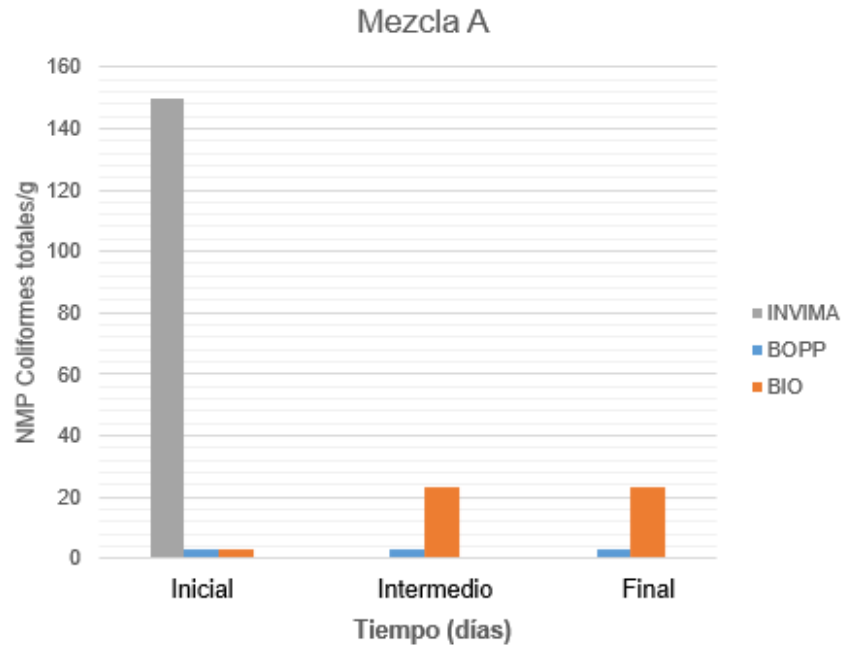
En 1975, tambien se estudió el modelamiento matematico para 3 diferentes variedades de tomate, utilizando un sistema de ecuaciones diferenciales. Se encontró que el equilibrio se da a las 30 horas aproximadamente⁵⁷.

4.5. Estudio de estabilidad

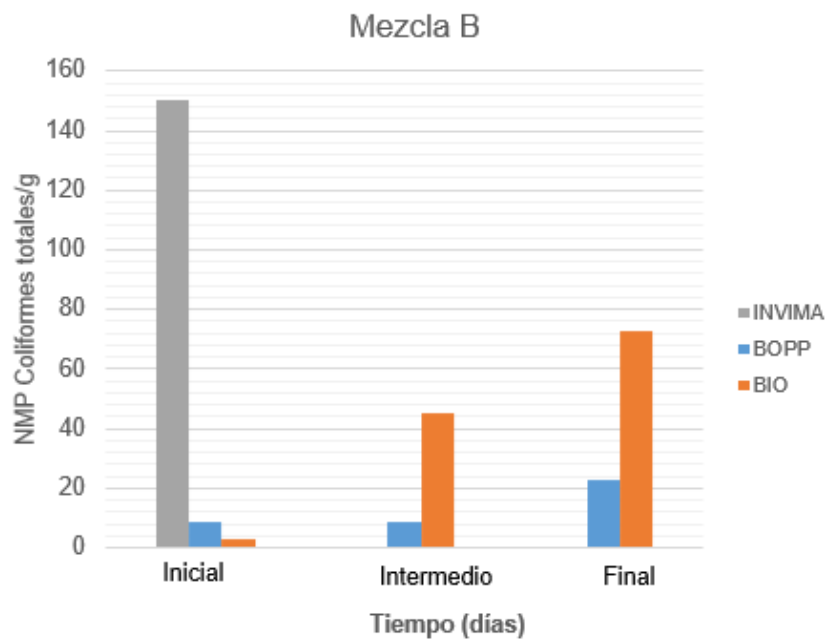
Tabla 5 Resultados de caracterización de los materiales a usar en estudio de estabilidad. Los valores corresponden a dos mediciones.

ANÁLISIS	BOPP	Natureflex TM NKA
WTR (Water transmisión rate)	4,251 $g/m^2.día$	2,5 $g/m^2.día$
O ₂ TR (Oxygen transmisión rate)	>200 $cc/m^2.día$	5 $cc/m^2.día$
CO ₂ TR (Dioxid carbon transmisión rate)	3,3 $cc/m^2.día$	9,81 $cc/m^2.día$

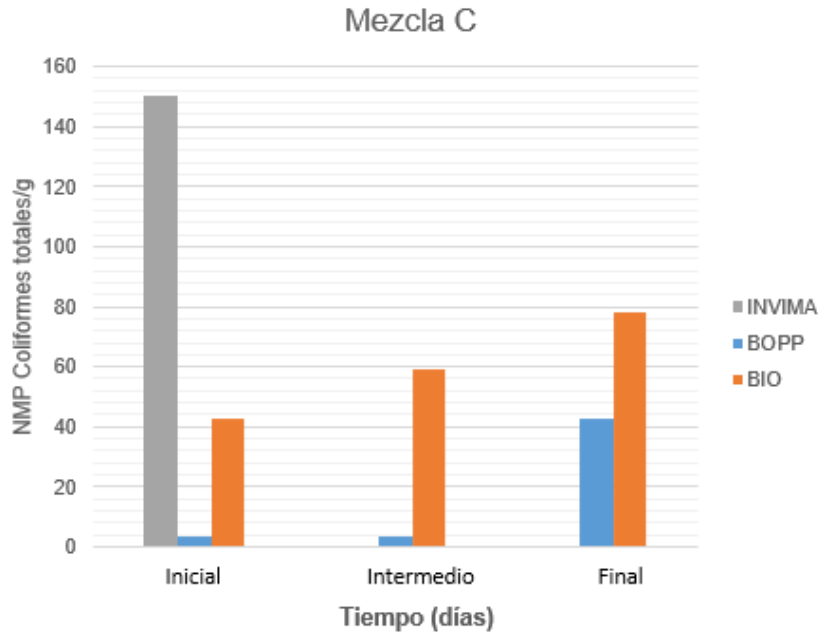
4.5.1. Resultados microbiológicos



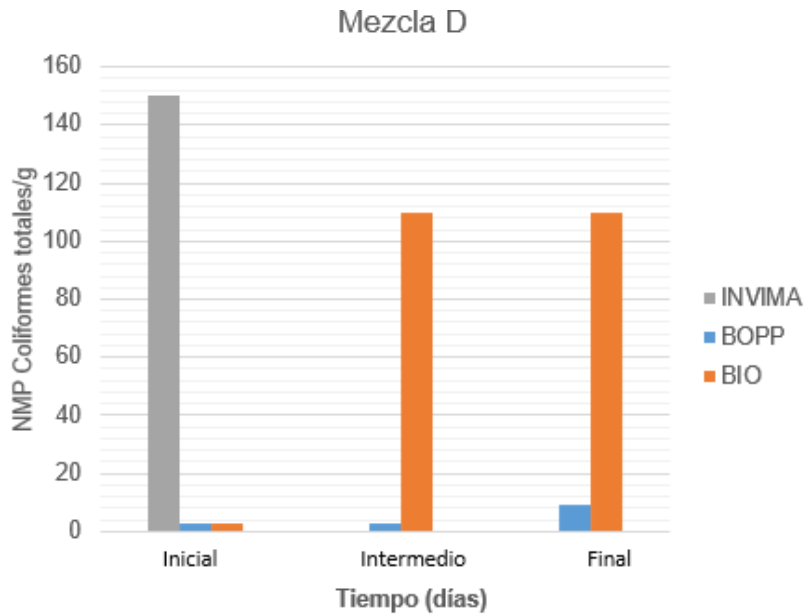
9a). Mezcla A: Kale, lechuga romana, tomate cherry.



9b). Mezcla B: Rúgula, repollo, lechuga crespa, zanahoria.



9c). Mezcla C: Lechuga crespa, zanahoria, tomate cherry, espinaca.



9d). Mezcla D: Lechuga romana, kale, remolacha, zanahoria, tomate cherry.

NMP/g *E. Coli* <3

Salmonella spp. Ausencia

Figura 9 Resultados microbiológicos inicial, intermedio y final de NMP Coliformes totales/g Vs tiempo (días).

En la figura 9 se muestran los resultados de coliformes en NMP para las mezclas evaluadas, respecto a límite establecido por el INVIMA, el cual se observa en color gris. Todos los análisis estuvieron dentro del parámetro estipulado por el compendio INVIMA (1998). Sin embargo, los recuentos para las muestras envasadas en biopolímero fueron mucho mayores que para las muestras en BOPP; lo cual se explica debido a las permeabilidades de vapor de agua de los materiales utilizados, los cuales se muestran en la tabla 5. Debido a que los valores de WTR fueron mayores en BOPP que en biopolímero, el vapor de agua permeó mas rápidamente en las muestras envasadas en BOPP y no se observó la formación de condensado; contrario a lo que ocurrió con el biopolímero, al cual si se le observó la formación de una cantidad considerable de goticas de agua dentro del material de envase (Figura 10), las cuales se agregaron para formar condensado; este aspecto favorece la proliferación de microorganismos ⁹¹.

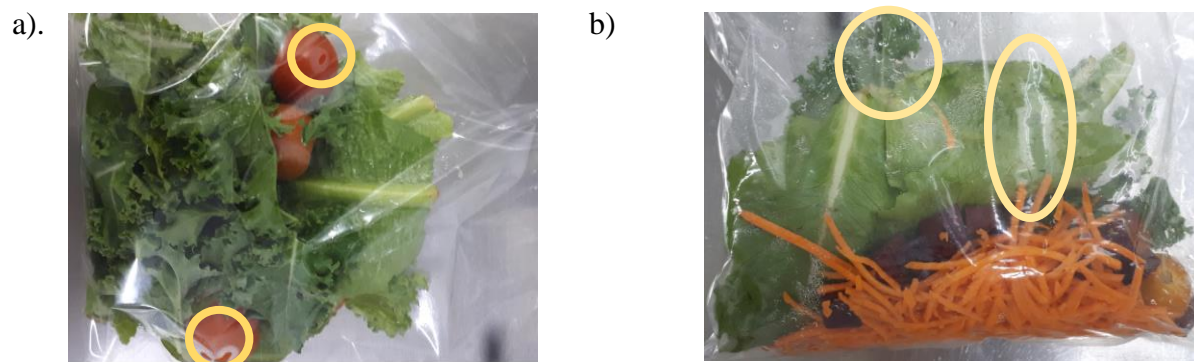
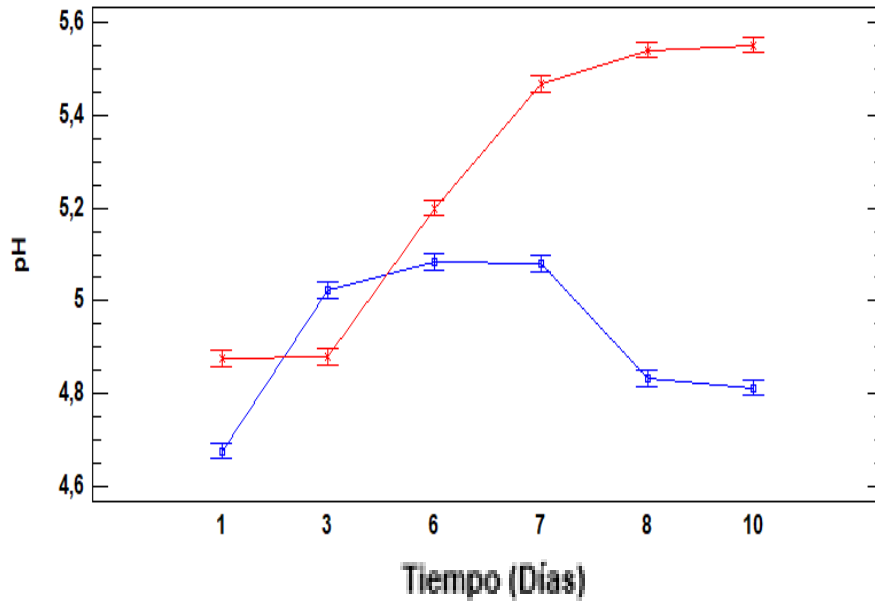


Figura 10 a) Mezcla A, utilizando como material de envase BOPP. b) Mezcla A, utilizando como material de envase biopolímero comercial (NatureflexTM NKA).

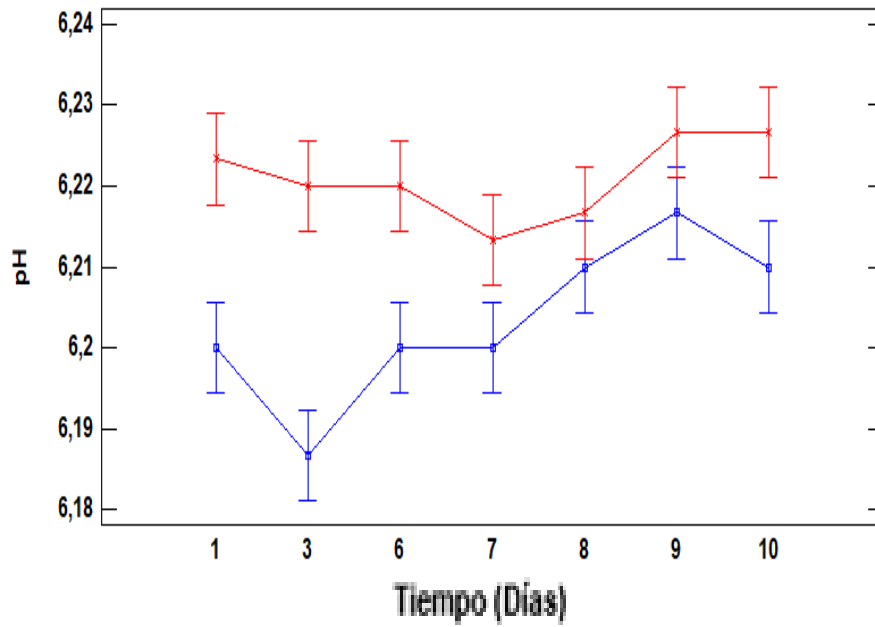
En 2016, investigadores en Grecia, evaluaron PLA en comparación con polipropileno, en vegetales mínimamente procesados, y encontraron una gran cantidad de formación de condensado en las muestras envasadas en PLA que favoreció el crecimiento de mohos, en comparación con el polipropileno, que tuvo menores recuentos⁹².

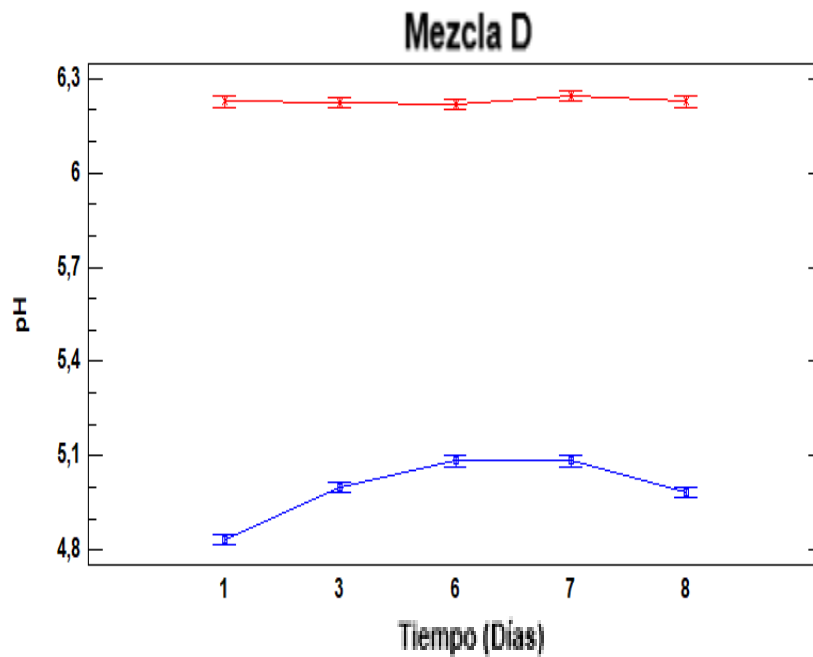
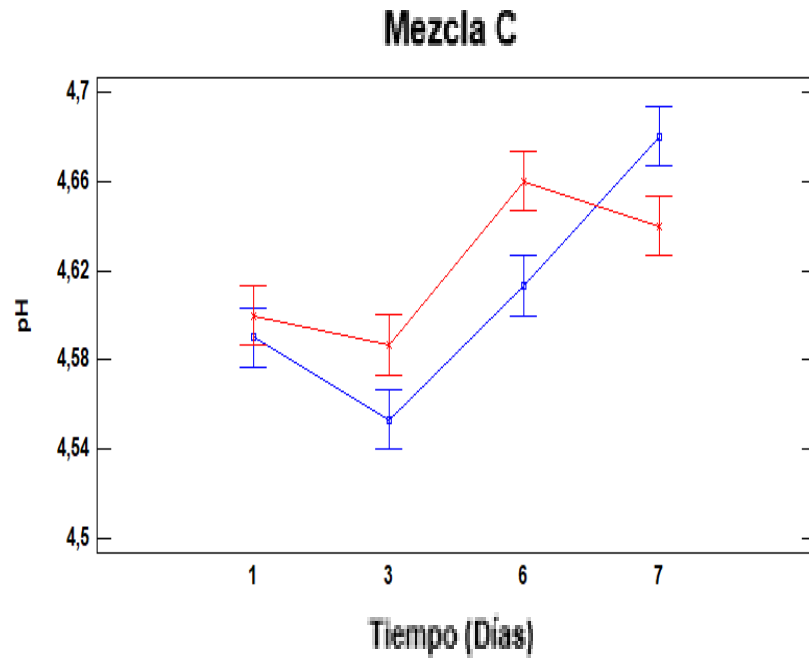
4.5.2. Resultados fisicoquímicos

Mezcla A



Mezcla B



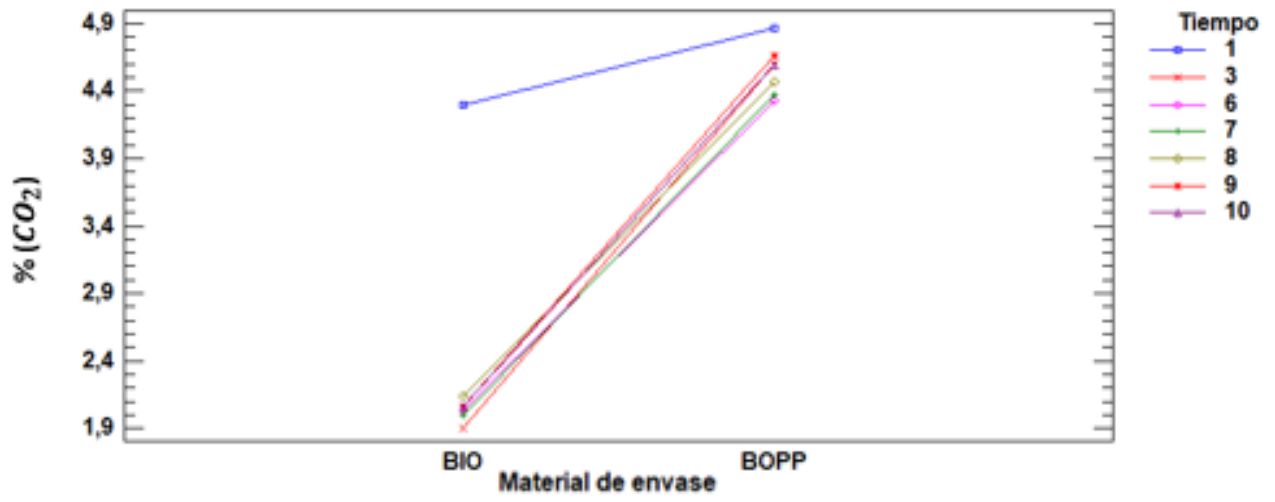


— BIO — BOPP

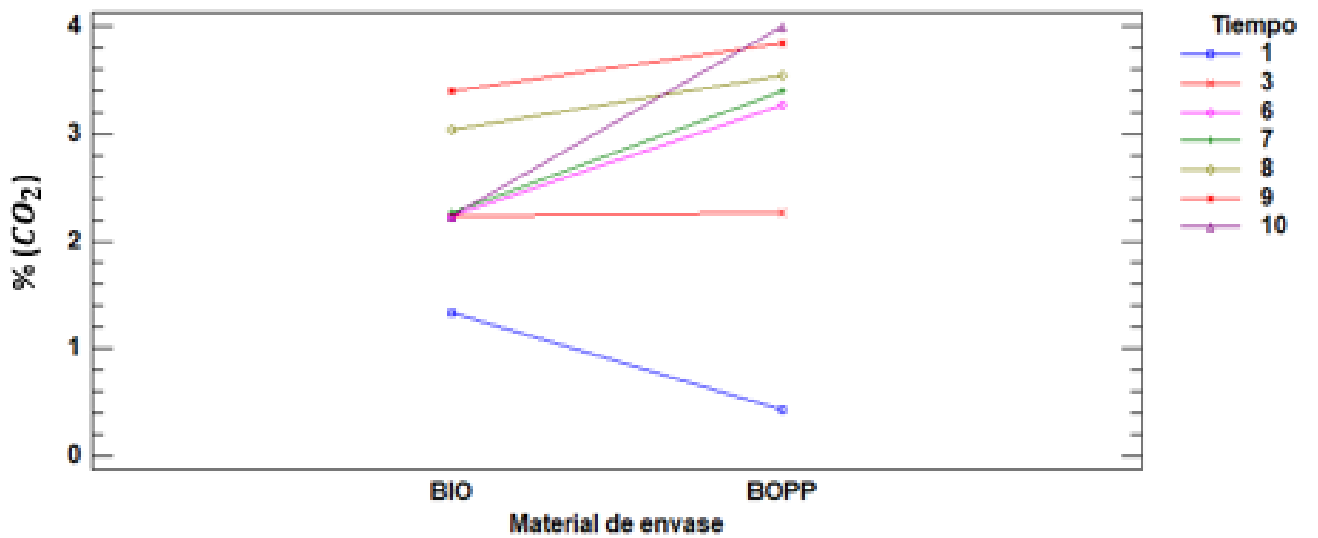
Figura 11. Variación del pH en el tiempo en cada mezcla de hortalizas evaluada, en Biopolímero y en BOPP. Cada punto corresponde al promedio de tres mediciones. Se incluyen barras de error en las gráficas.

En la figura 11 se muestra el comportamiento del pH en el tiempo. En general se observa un aumento, ya que especialmente en el tomate se da una conversión de ácidos orgánicos en azúcares en el tiempo ⁹³, por lo tanto la acidez tiende a disminuir. Las muestras almacenadas en BOPP tuvieron valores de pH mayores que el biopolímero, en el tiempo. Este comportamiento puede estar asociado a la cantidad de dióxido de carbono inicial de las muestras en biopolímero debido a la atmósfera modificada, que fue superior en relación a las muestras almacenadas en BOPP, esta cantidad inicial de dióxido de carbono se absorbe sobre la superficie del alimento, formando ácido carbónico y una posterior ionización del mismo, produciendo así, una reducción del pH. Sin embargo, esta disminución mínima en el pH probablemente no causaría ningún efecto bacteriostático significativo ⁹⁴. En 2017, Escalona V.H. comprobó que el pH en productos mínimamente procesados envasados en atmósfera modificada presentan menores valores de pH que productos sin atmósfera, y debido a ello se puede determinar el ataque de la fenilalaninamonio-
lisa (PAL) a estos productos, la cual se activa a pH bajos ⁹⁵.

Mezcla A



Mezcla B



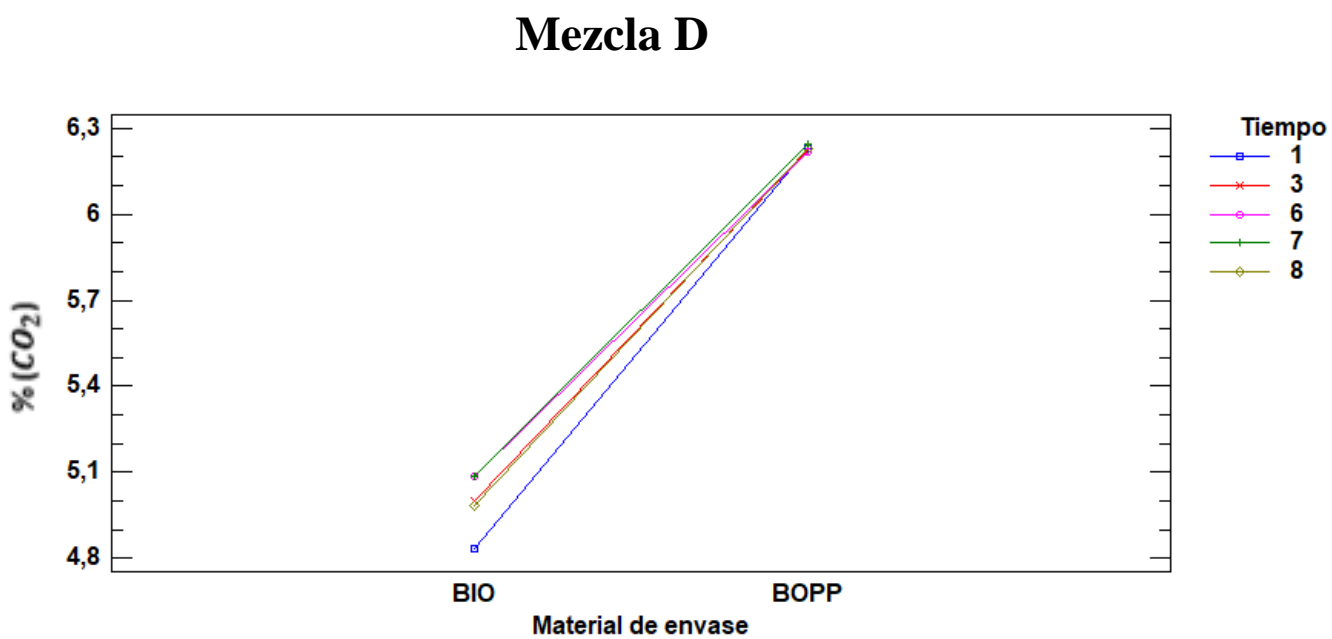
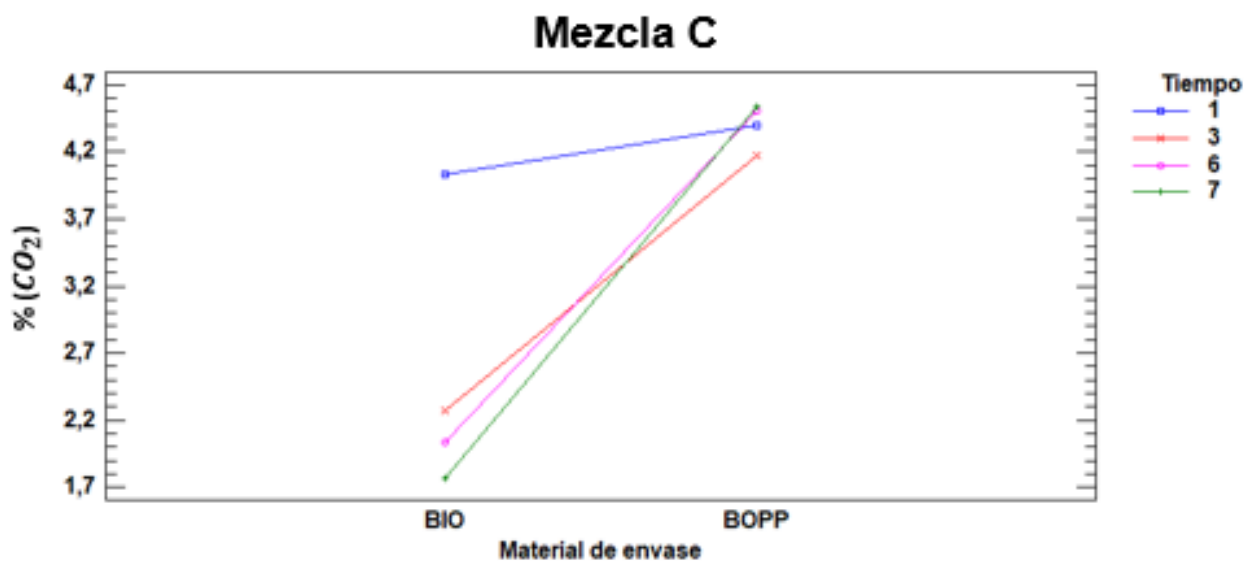
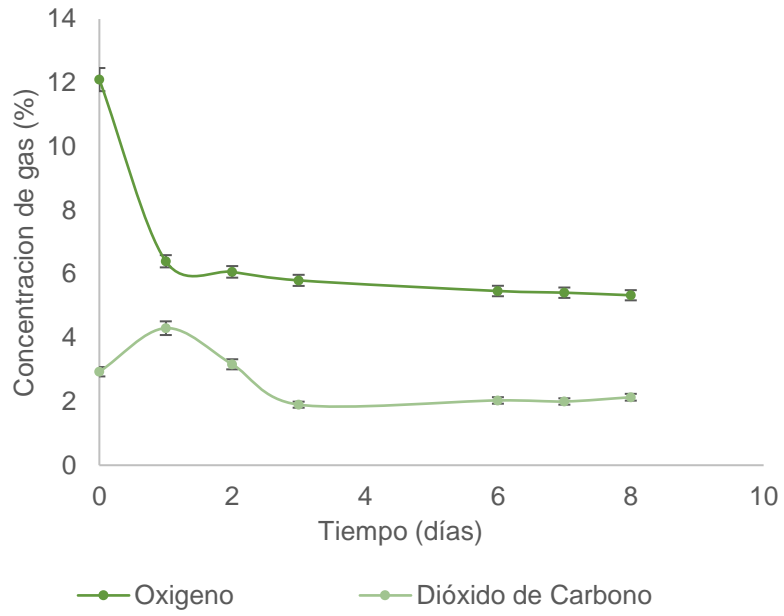


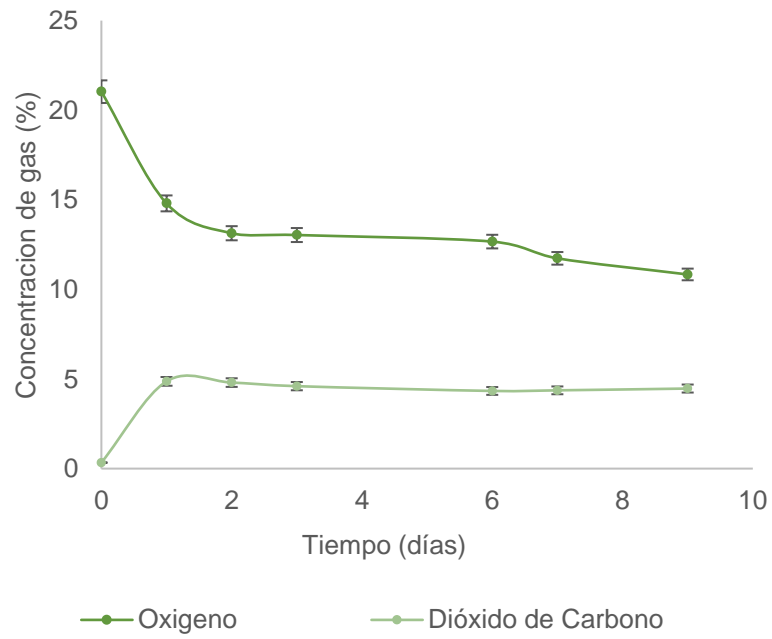
Figura 12 Variación de la concentración de CO₂ en el tiempo (días), en Biopolímero y BOPP de cada mezcla de hortalizas evaluada.

Mezcla A

BIO

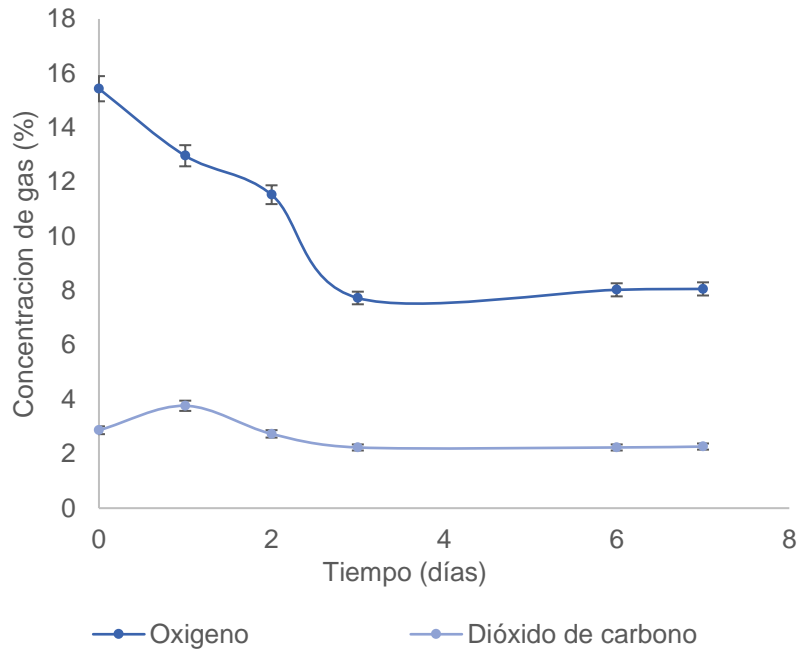


BOPP

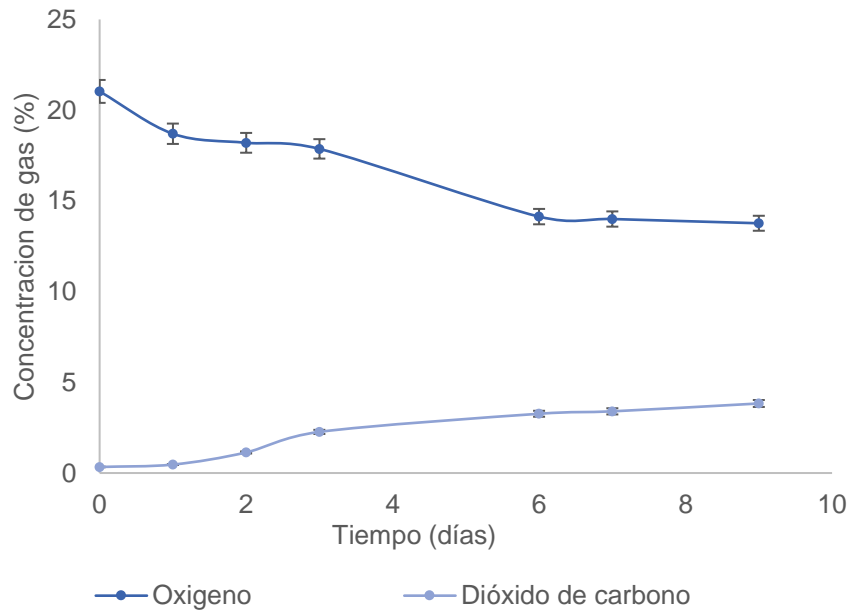


Mezcla B

BIO

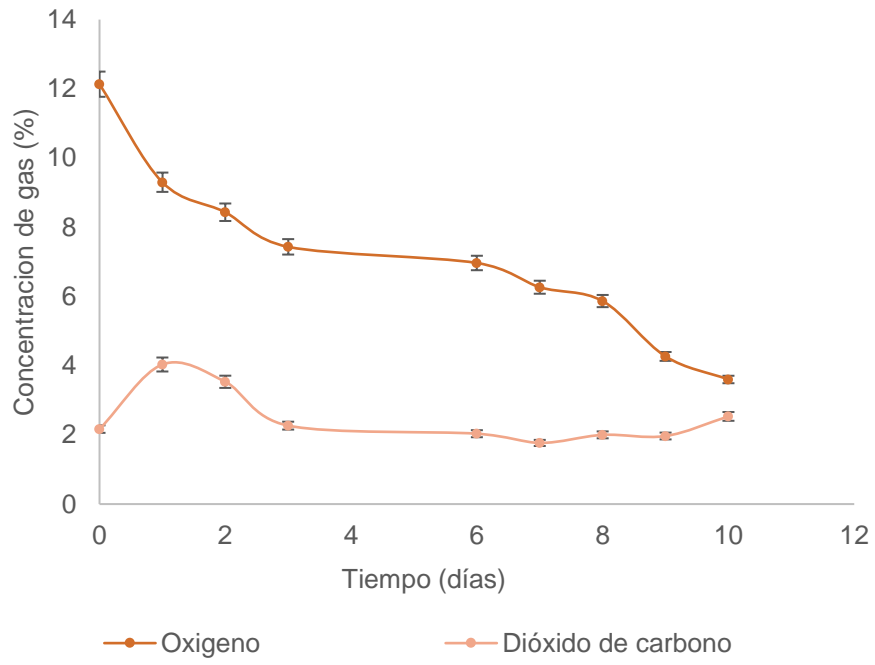


BOPP

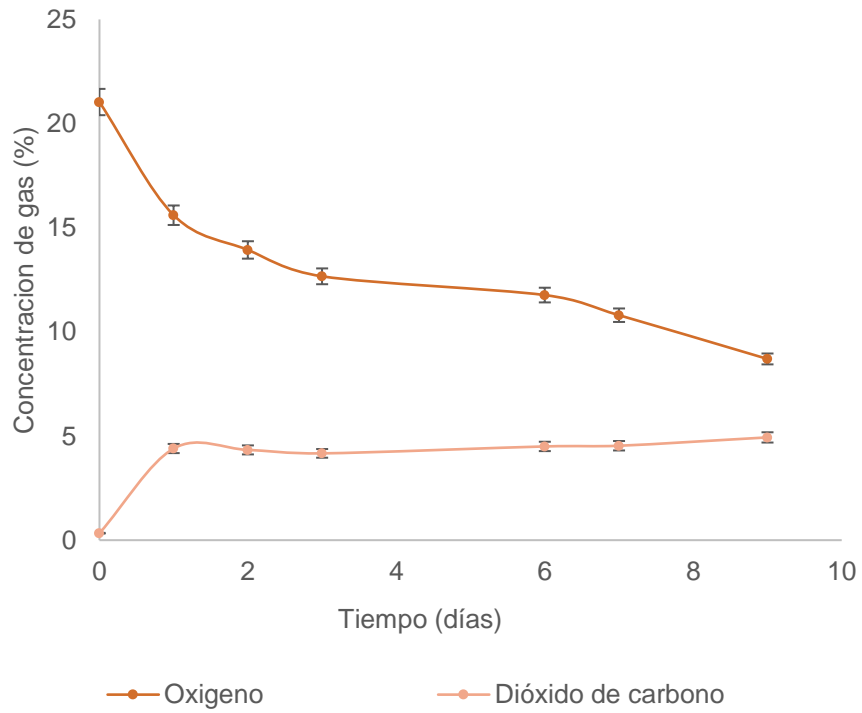


Mezcla C

BIO

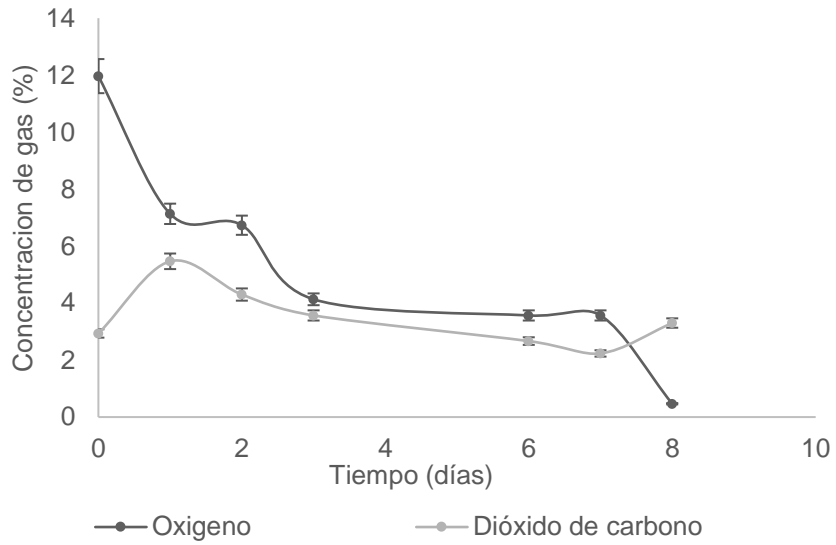


BOPP



Mezcla D

BIO



BOPP

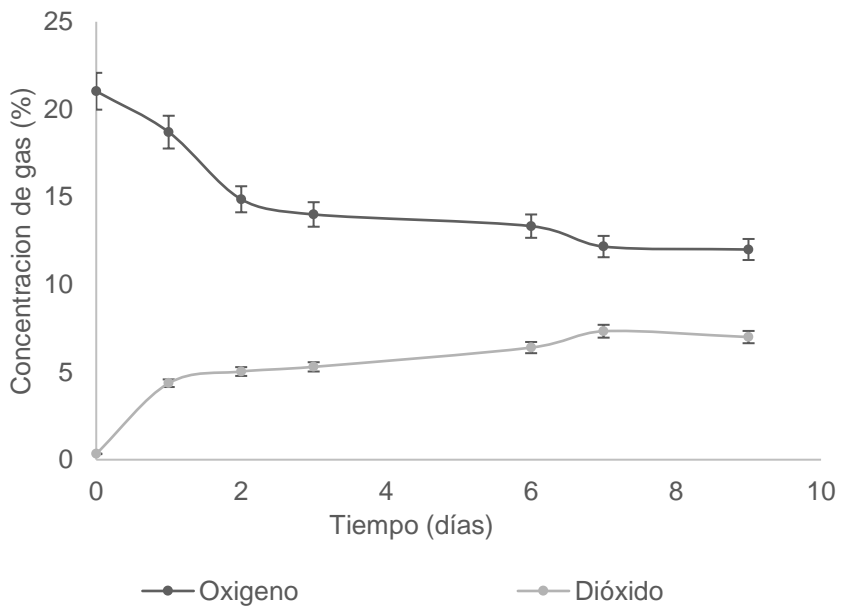
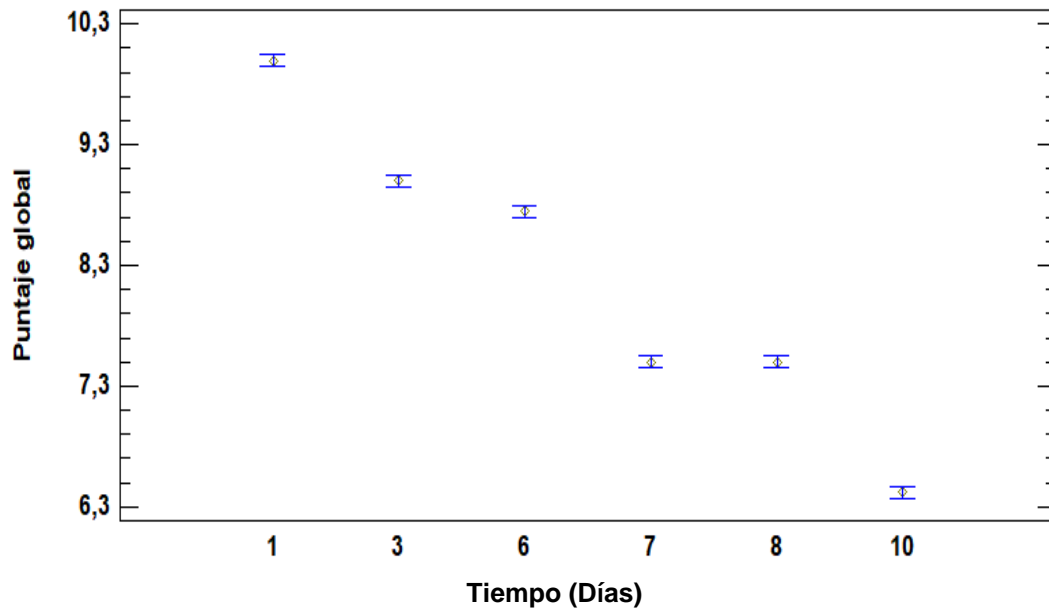


Figura 13 Variación de la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el tiempo, en biopolímero y BOPP de cada mezcla evaluada. Cada punto de la gráfica corresponde al promedio de tres mediciones.

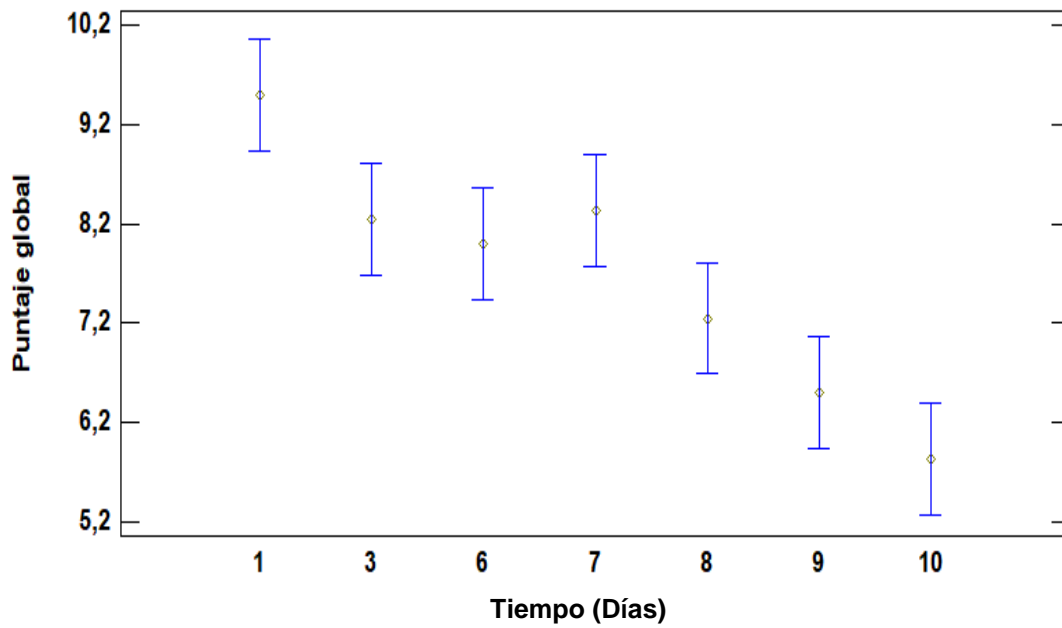
En las figuras 12 y 13, se observa el comportamiento de la actividad respiratoria para cada mezcla. En la figura 12 se observa que en general en el BOPP hubo una mayor actividad respiratoria que en el biopolímero, este comportamiento fue más marcado en las mezclas A, C y D, que en la mezcla B; esto pudo deberse a que en esta mezcla las concentraciones de gases en biopolímero fueron muy similares a las concentraciones atmosféricas, iniciando con concentraciones de 1% en dióxido de carbono. En la figura 13, se observa el comportamiento de los gases en el tiempo, más detallado. Para todas las muestras se observa que hay una disminución de oxígeno en el tiempo y un aumento en la concentración de dióxido de carbono en ambos materiales, sin embargo, para las muestras envasadas en biopolímero se evidencia un pico en el día 1 en la concentración de dióxido de carbono, y posteriormente se da una disminución importante de las concentraciones de este gas. Este comportamiento está asociado en primer lugar a la permeabilidad al dióxido de carbono del material, que es mucho mayor en el biopolímero que en BOPP, por tanto, permite que sea posible permear este gas cuando hay una acumulación. En segundo lugar, esto se puede dar, gracias al modelamiento matemático, pues iniciando con 2% de dióxido de carbono se consigue que al tercer o cuarto día las concentraciones de dióxido de carbono sean menores que en el polipropileno, en el que no se utilizó atmósfera. Resultados similares obtuvieron Salvador M.L y colaboradores, en el 2002, quienes evaluaron la atmósfera modificada en Burlat cherries, y observaron comportamientos muy similares de este gas en las muestras envasadas en atmósfera. Este comportamiento lo asocian también a la permeabilidad al dióxido de carbono del material de envase y lo encuentran positivo para la incidencia en la vida útil, pues altas concentraciones de dióxido de carbono pueden generar malos olores dentro del material de envase ⁹⁶.

4.5.2. Resultados sensoriales

Mezcla A



Mezcla B



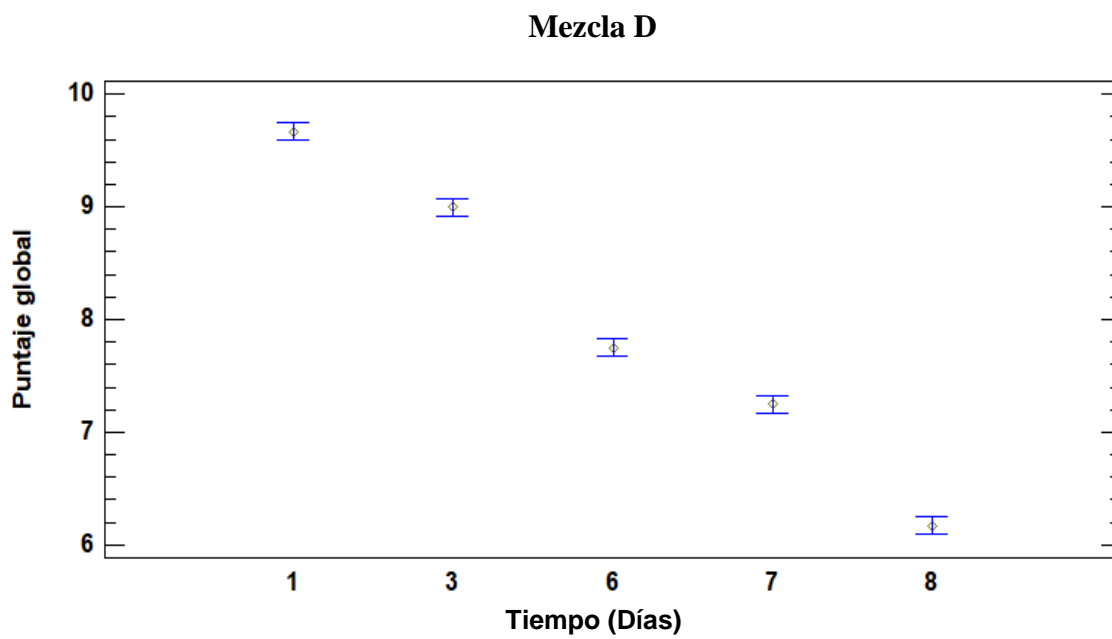
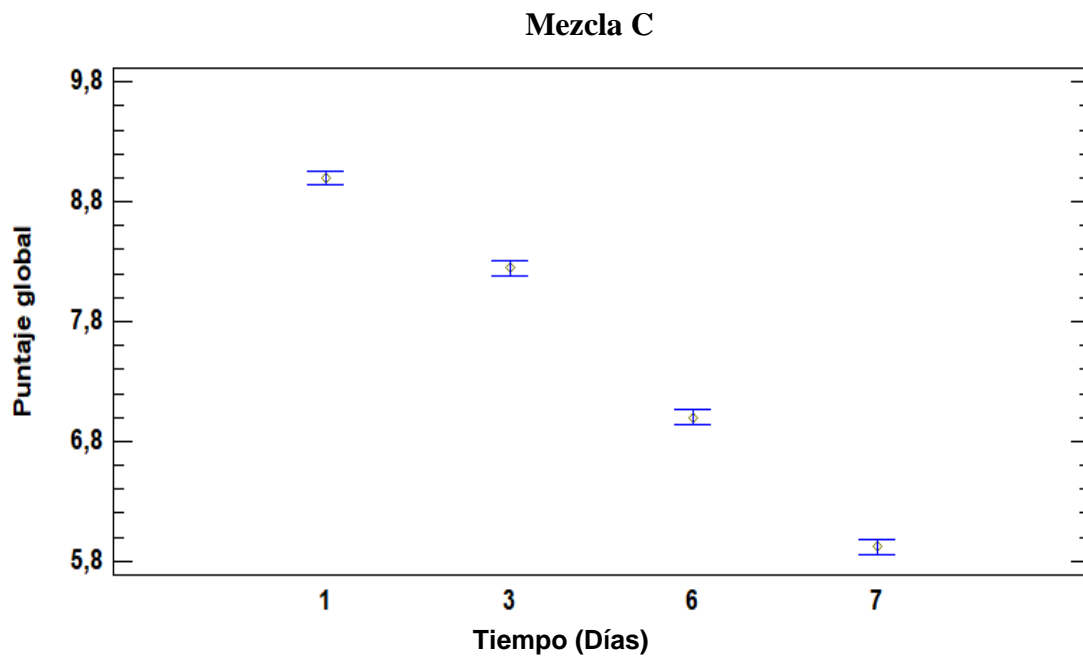
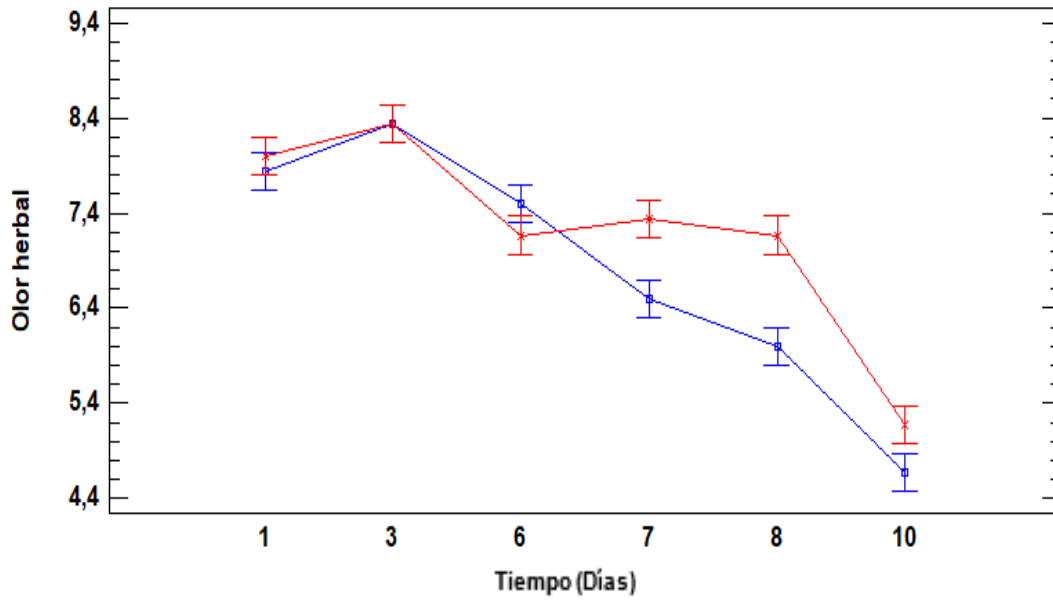


Figura 14 Gráfico de medias, variación del puntaje global en el tiempo en biopolímero, de cada mezcla evaluada.

La figura 14, muestra la variación del puntaje global en el tiempo de las mezclas de hortalizas almacenadas en el biopolímero, la mezcla con mayor puntaje global a los 10 días fue la mezcla A, seguida por la mezcla B, 9 días, mezcla D, 8 días y finalmente la mezcla C, con 7 días. El puntaje global fue calificado como una percepción general que dieron los jueces a cada una de las ensaladas, tras haber calificado todos los descriptores evaluados, como olor vegetal, olor herbal, sabor, amargo, frescura, entre otros. La figura 14 muestra que el puntaje global va disminuyendo en el tiempo en todas las mezclas de hortalizas; sin embargo, la mezcla A, se mantuvo un mayor número de días con un puntaje global más alto que las demás mezclas evaluadas. Esta mezcla fue la que menor número de hortalizas tenía en interacción, por tanto, la actividad metabólica es mucho menor y la vida útil se prolonga. En algunos estudios han encontrado que la vida útil de una sola hortaliza mínimamente procesada como variedades de lechuga, y espinaca baby, por separado, pueden tener una duración entre 10 y 12 días⁹³, debido a que existe menos interacción entre los componentes de los productos involucrados.

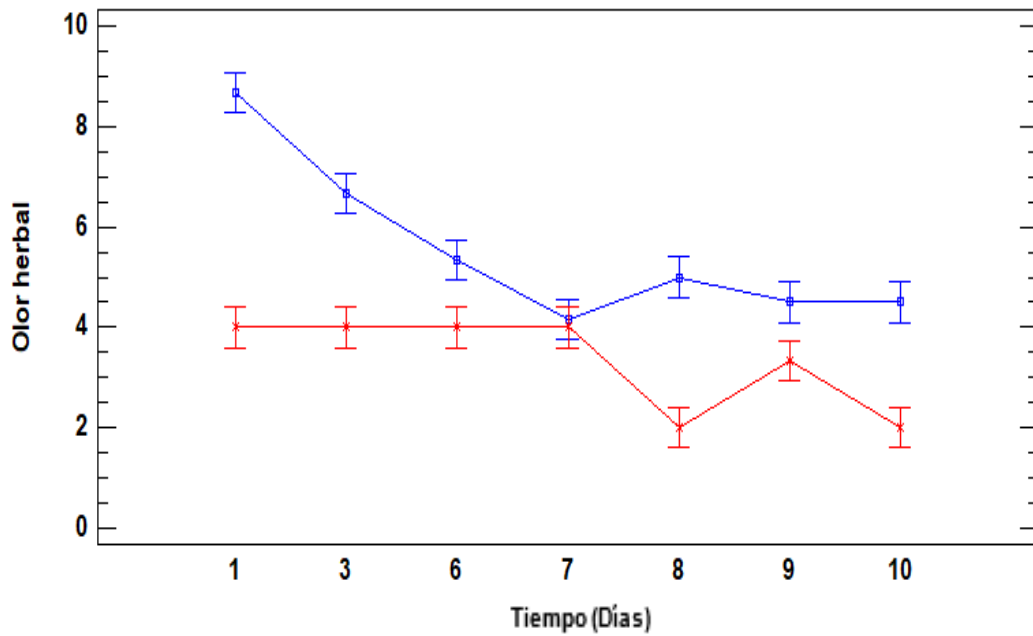
La mezcla B, tuvo un tiempo de vida útil muy cercano a la mezcla A, debido a que a pesar de que tenía 4 hortalizas interactuando, no hubo presencia de tomate cherry. Este no solo posee una alta tasa de respiración en su punto óptimo de maduración, debido a su condición climática; sino que provee a la mezcla una cantidad de calor de respiración que es liberado como vapor de agua, este vapor de agua, tiende a condensarse y generar problemas de marchitamiento a la mezcla⁹⁷.

Mezcla A



— BIO — BOPP

Mezcla B



— BIO — BOPP

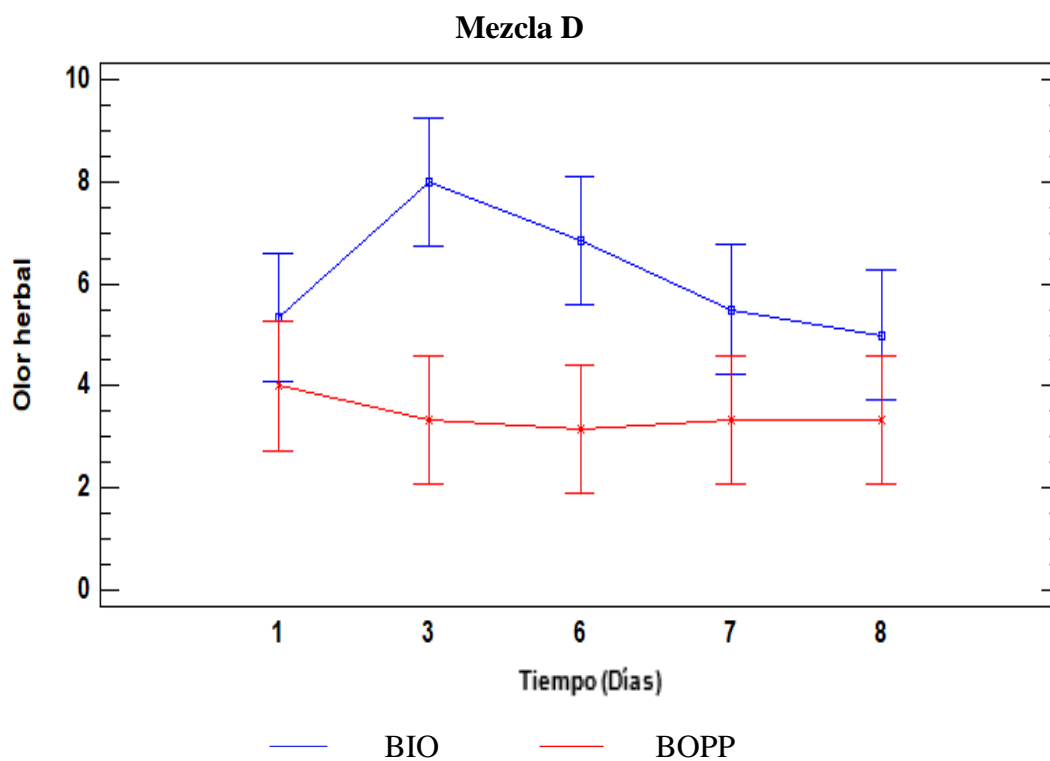
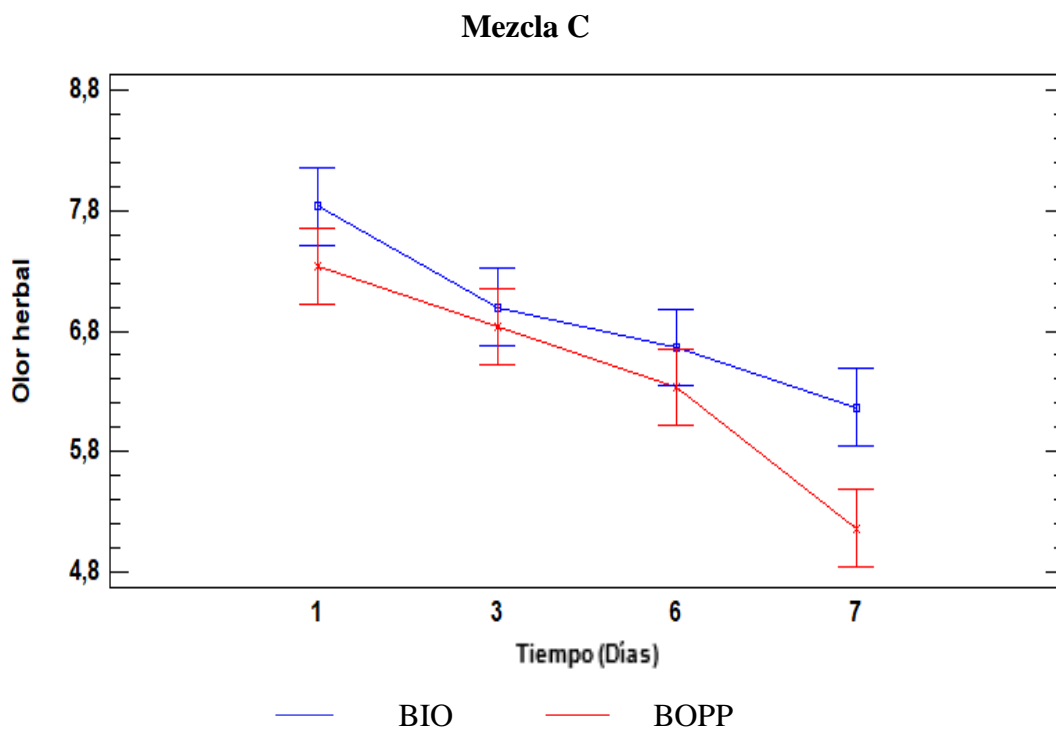
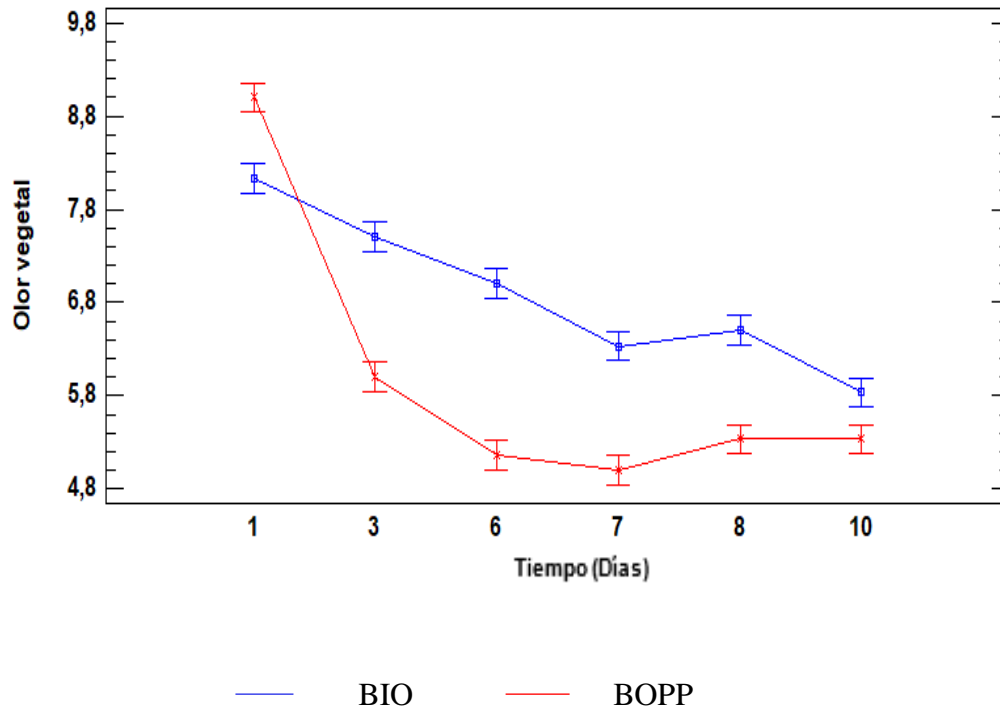
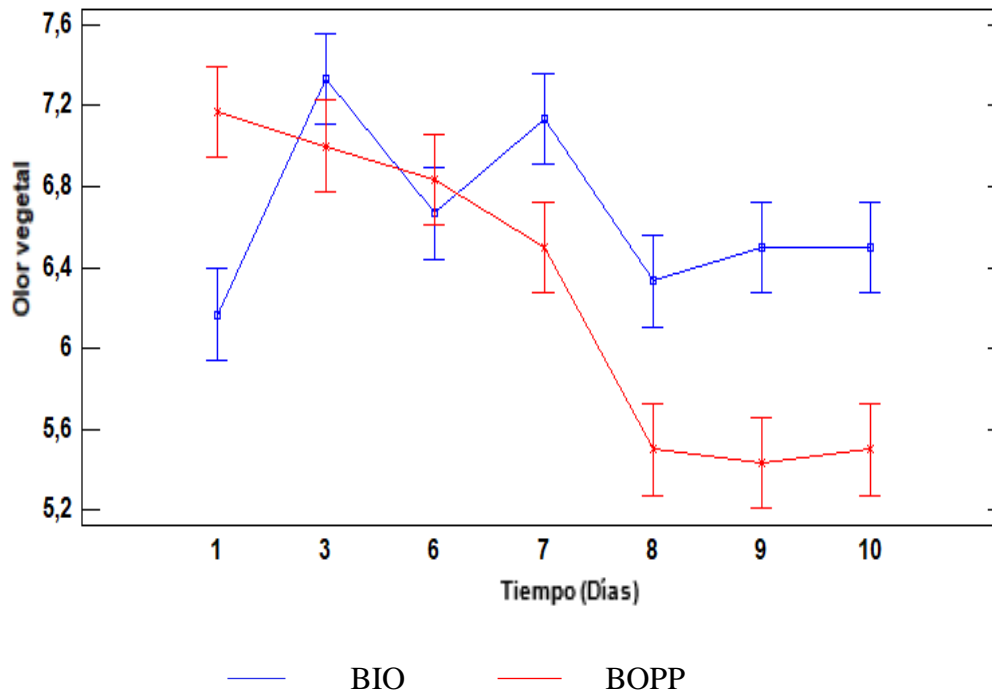


Figura 15 Variación del olor herbal en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada

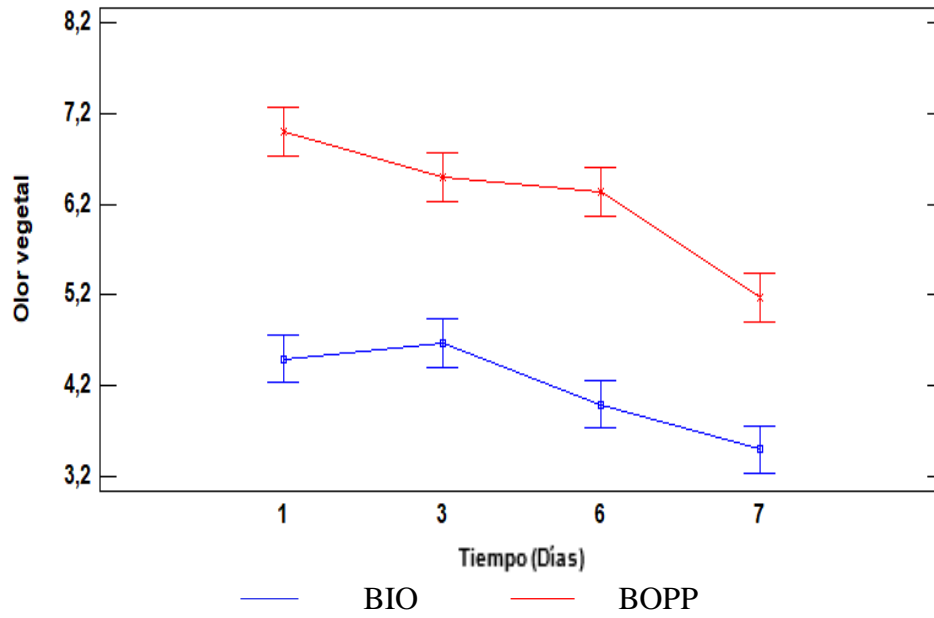
Mezcla A



Mezcla B



Mezcla C



Mezcla D

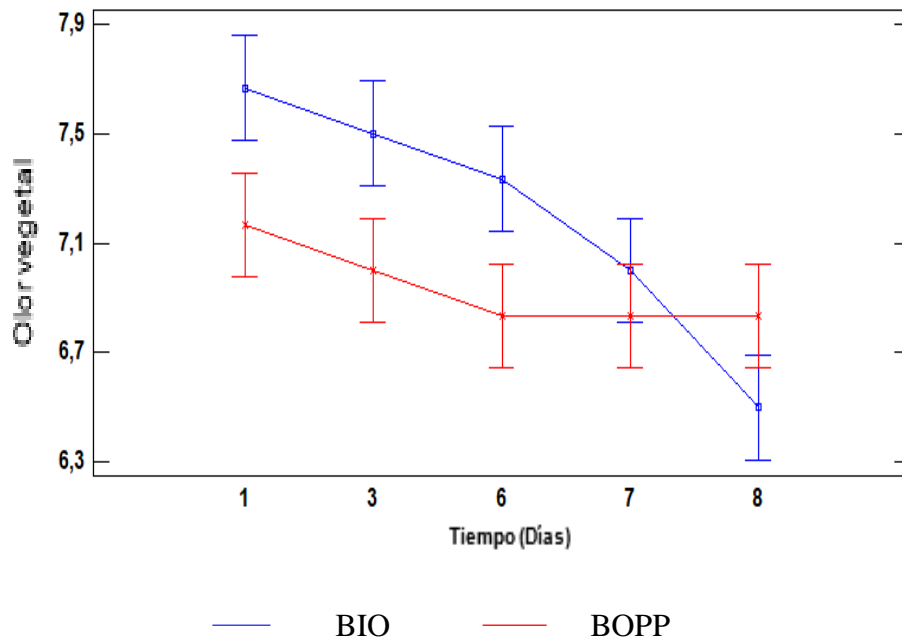
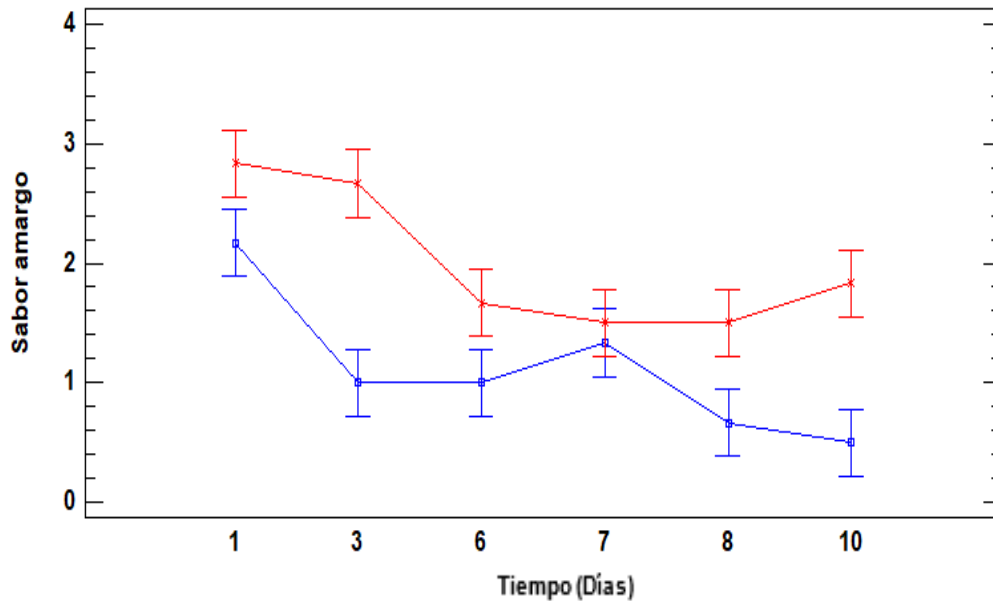


Figura 16 Variación del olor vegetal en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.

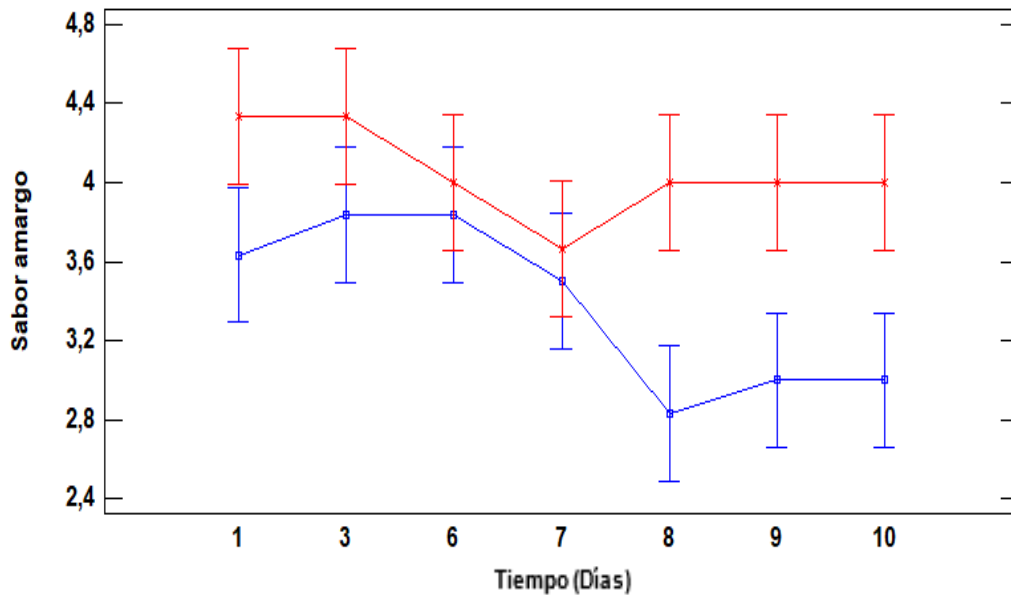
Las figuras 15 y 16, muestran el comportamiento en el tiempo del olor herbal y el olor vegetal. Para ambos se observa que hay una disminución en el tiempo, y los valores en biopolímero fueron mayores que en BOPP; esto se explica de acuerdo a la permeabilidad a los gases de cada material, detallados en la tabla 5. La permanencia de estos aromas dentro del material de envase tiene que ver sin duda alguna con la permeabilidad de los materiales, pues estos aromas son finalmente sustancias volátiles que se escapan al ambiente de acuerdo al peso molecular de la sustancia asociada. En la ficha técnica sensorial se discutió que el Kaempferol es una sustancia que puede atribuir olores y sabores herbales, esta molécula fue estudiada por Gil I. y colaboradores en 2007, en hojas de acelga, y encontraron que este compuesto y en general otros flavonoides estudiados se concentran mucho más en muestras con atmósfera modificada que en muestras envasadas en aire, como resultado de la tasa de respiración de los tejidos y las características de difusión del gas, en este caso dióxido de carbono en la película biopolimérica⁹⁸.

Mezcla A



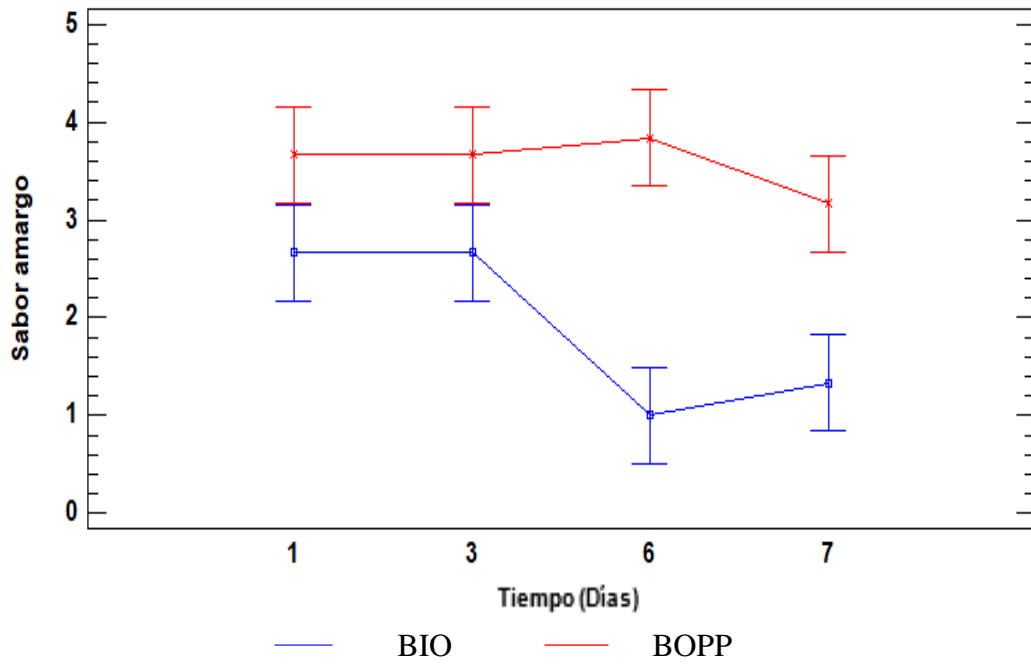
— BIO — BOPP

Mezcla B



— BIO — BOPP

Mezcla C



Mezcla D

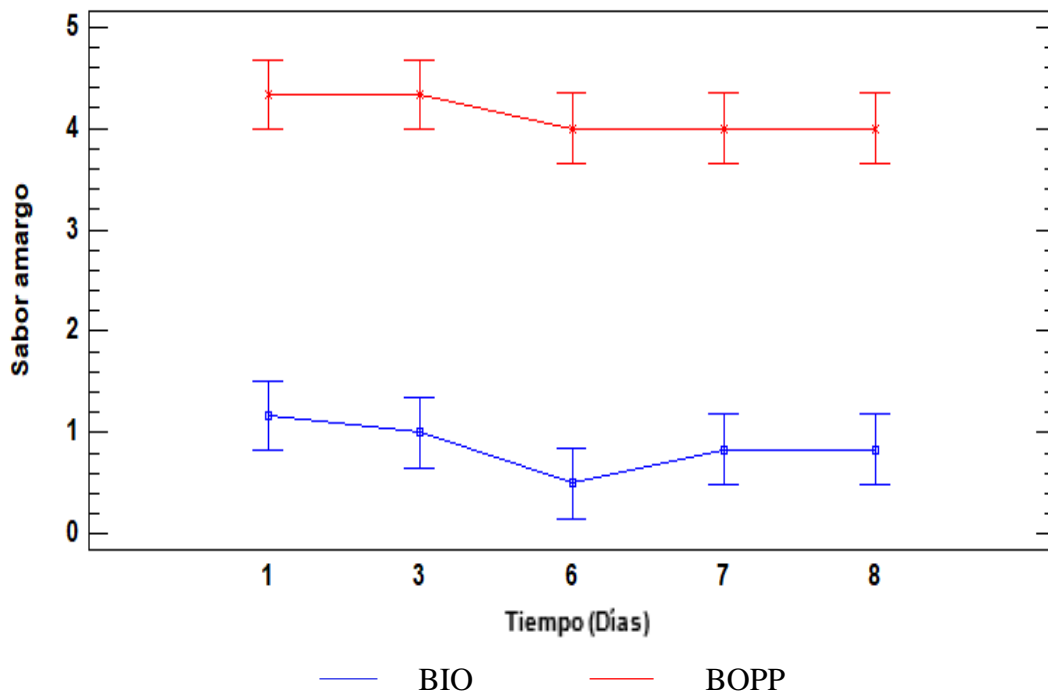
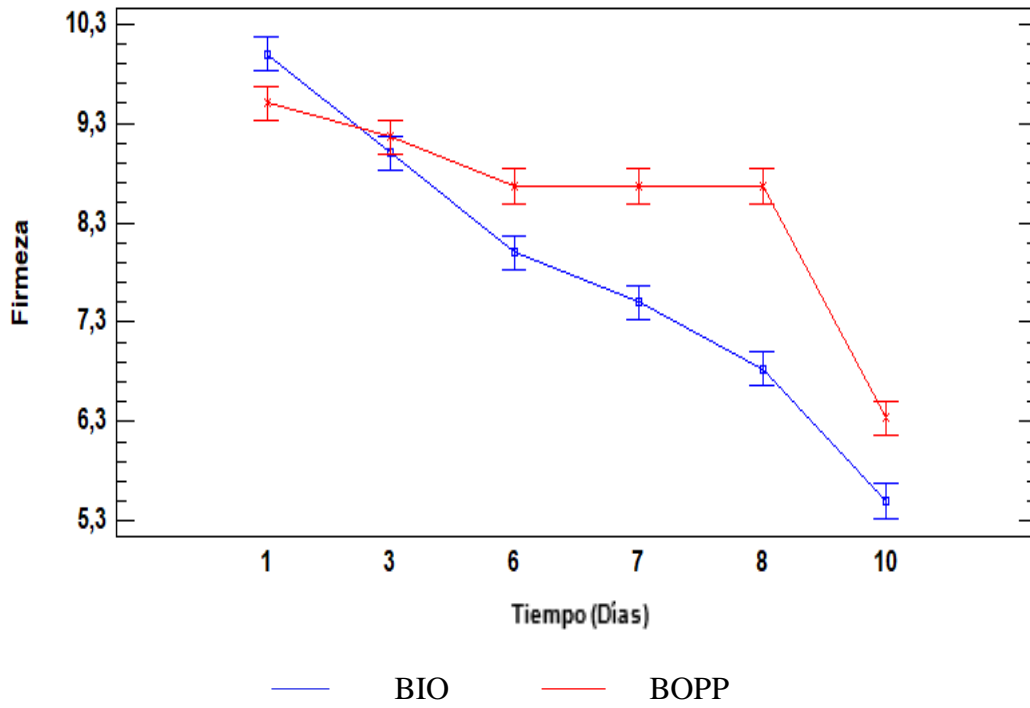


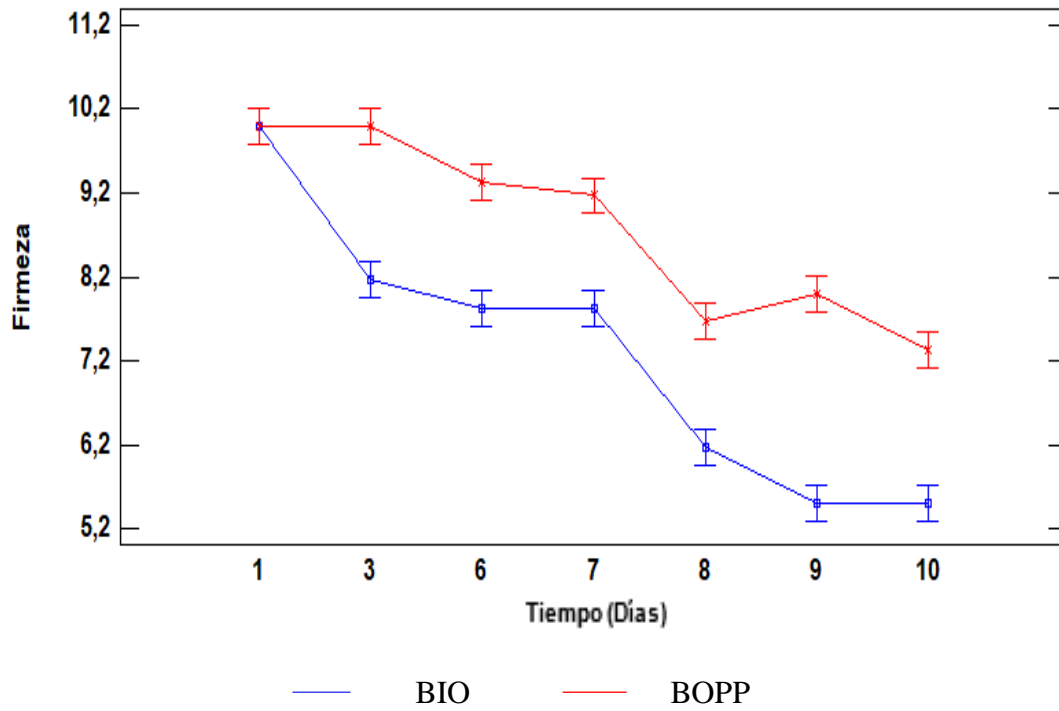
Figura 17 Variación del sabor amargo en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.

Respecto al sabor amargo, que se visualiza en la figura 17, se encontraron valores mayores para el BOPP; esto puede ser explicado debido a la mayor permeabilidad al oxígeno presentado por este material de acuerdo a la tabla 5. Esta condición genera una mayor interacción entre el oxígeno y compuestos como la tirosina, presente en lechuga romana, espinaca y zanahoria, dando lugar al proceso de pardeamiento enzimático, que conlleva a la formación de sabores amargos ⁹⁹. Por otra parte, se ha encontrado que hortalizas pertenecientes a las *Brassicaceae*s poseen contenidos de cucurbitacinas, metabolitos secundarios de las plantas, que pueden aumentar sus sabores amargos en presencia de oxígeno ¹⁰⁰. Adicional a ello, la presencia de oxígeno aumenta la actividad respiratoria de frutos climatéricos como el tomate, generan cantidades de etileno que dan lugar a la formación de sustancias amargas presentes en la zanahoria como las isocumarinas ¹⁰¹.

Mezcla A



Mezcla B



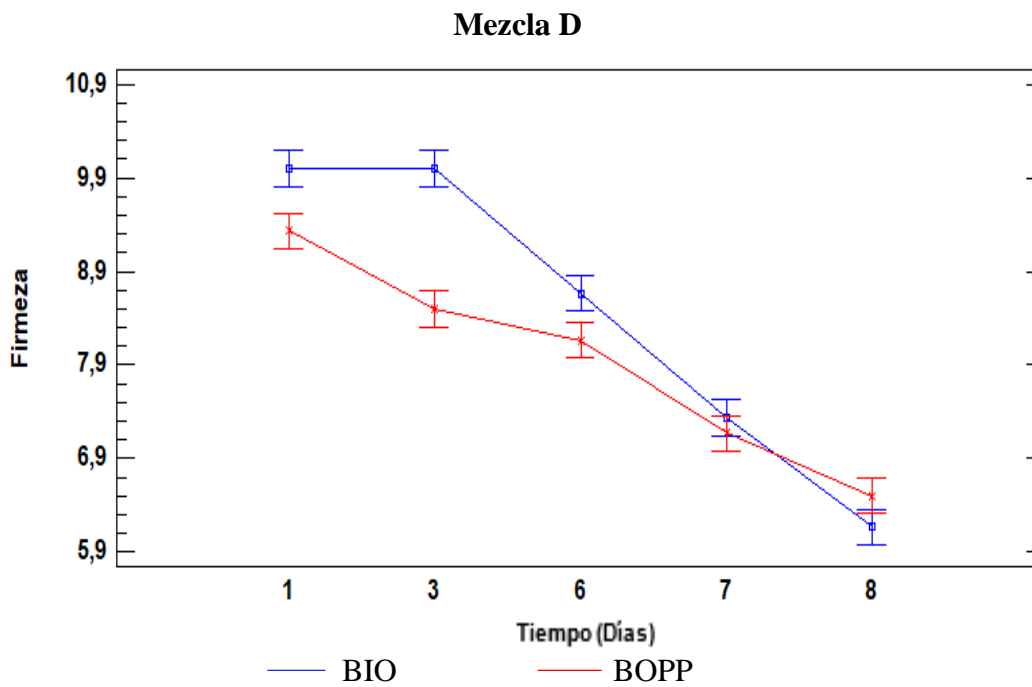
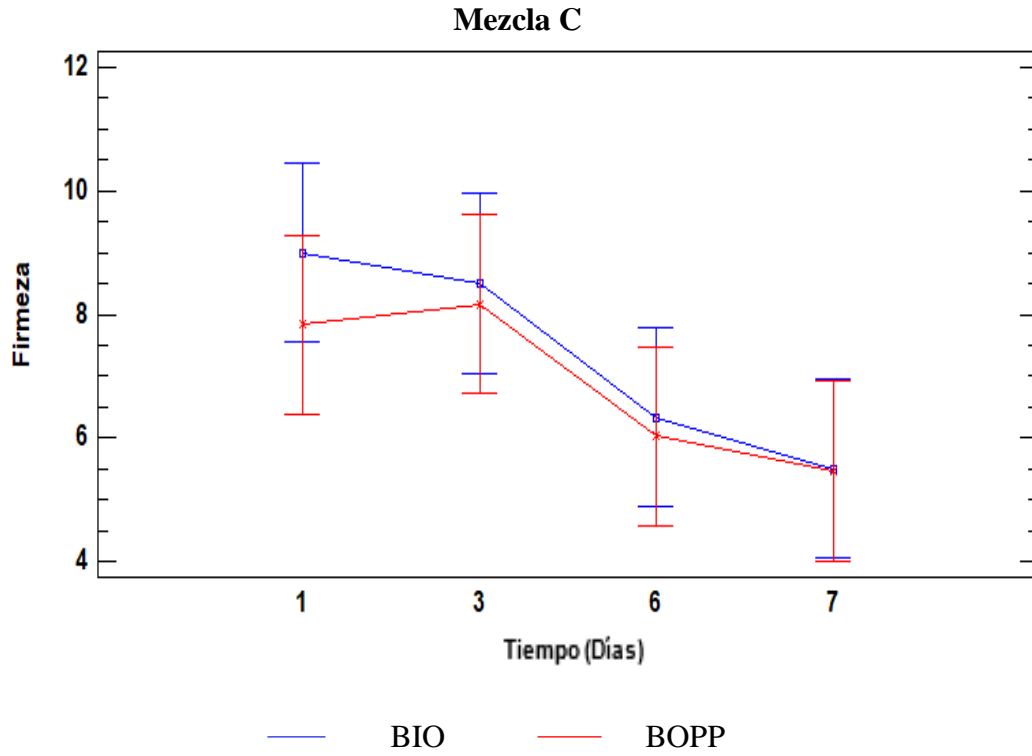
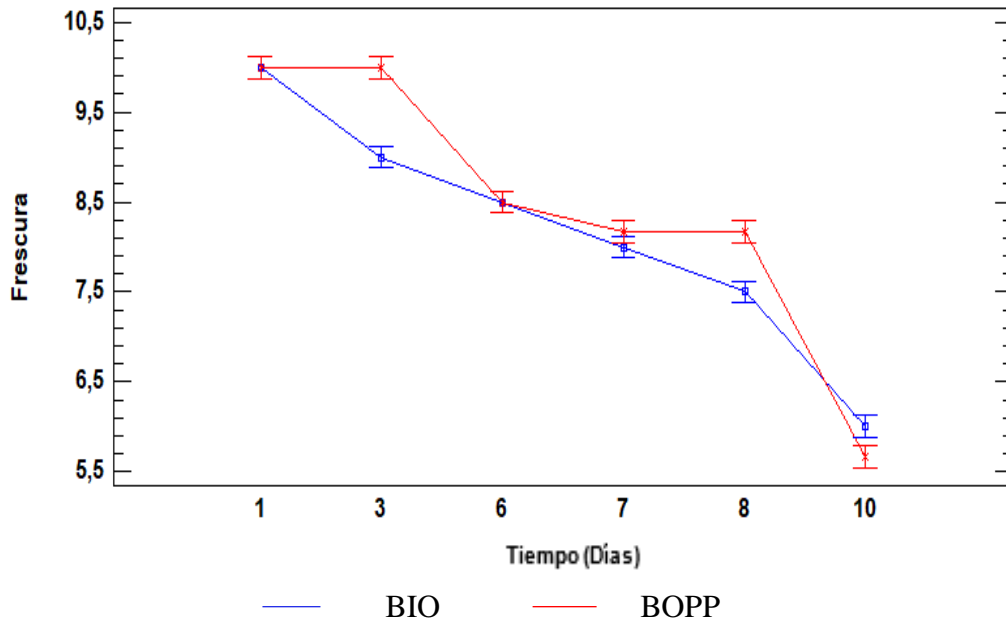
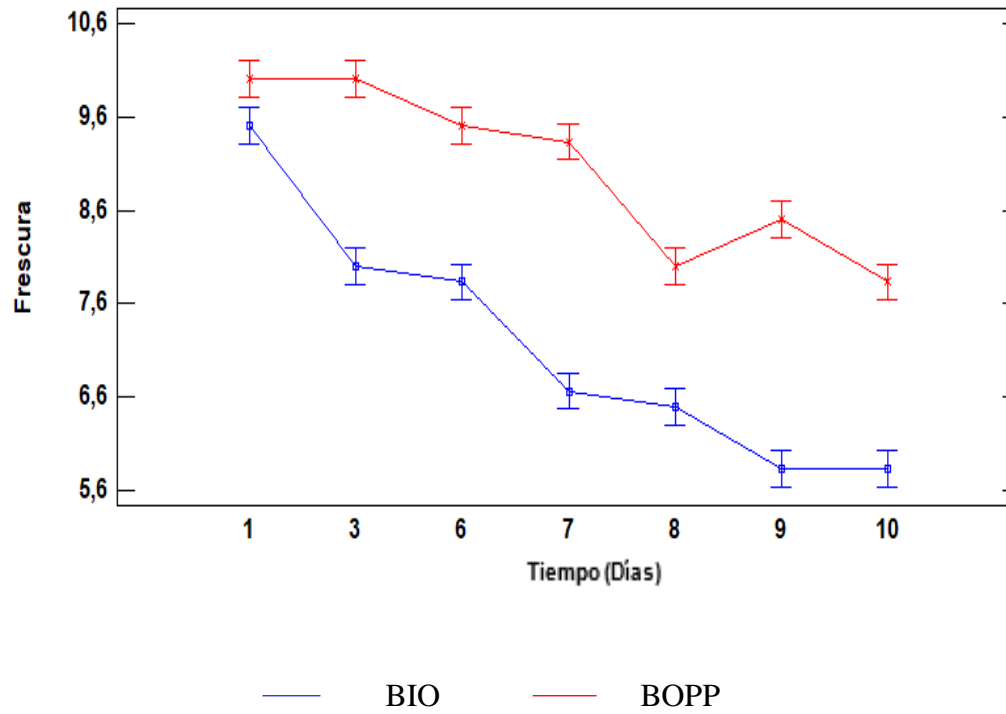


Figura 18 Variación de la firmeza en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada

Mezcla A



Mezcla B



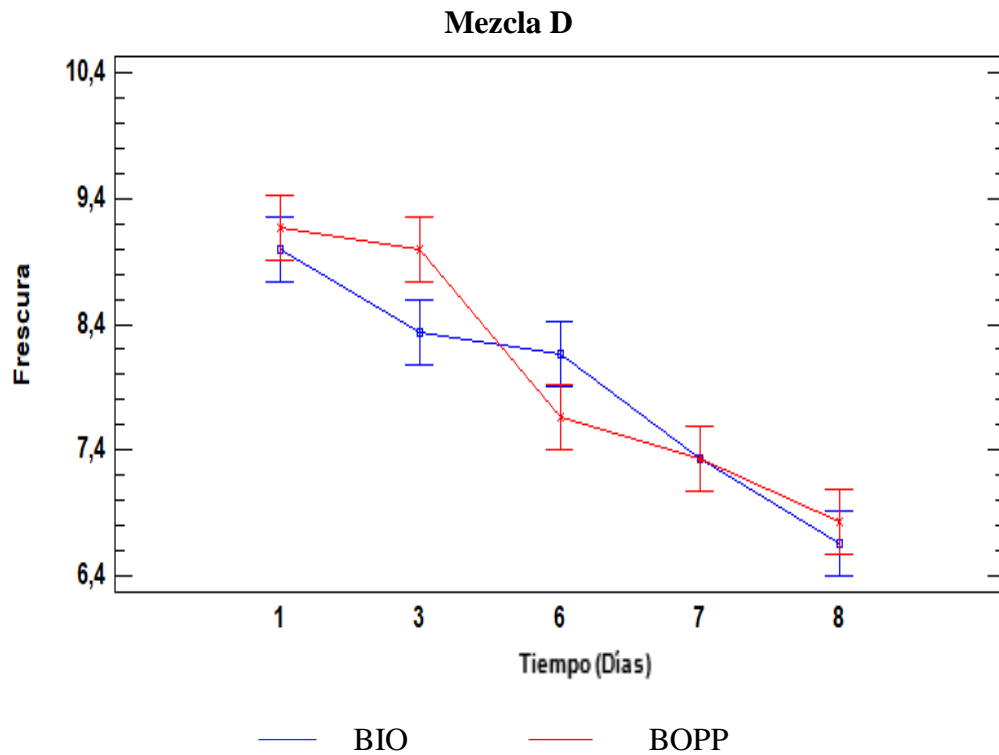
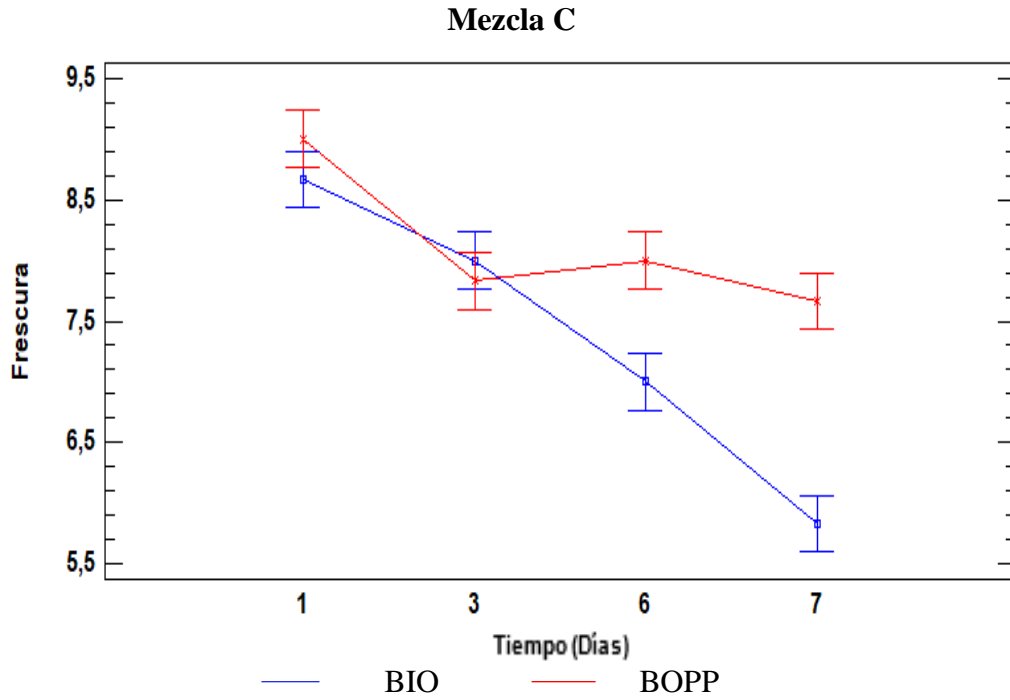


Figura 19 Variación de la frescura en el tiempo en biopolímero y BOPP, de cada mezcla evaluada.

Las figuras 18 y 19, muestran la variación de la firmeza y la frescura en el tiempo, respectivamente, en ambos descriptores se observa una disminución en el tiempo, y en general, el comportamiento es muy similar respecto a los materiales de envase. Anteriormente se discutió la mayor permeabilidad al vapor de agua del BOPP en comparación con el biopolímero; esto puede tener una relación con el grado de firmeza, debido a que el condensado que se va generando, va a hacer que las hortalizas que interactúan tengan una mayor cantidad de agua involucrada, lo que finalmente va a repercutir en la pérdida de la crujencia y asimismo la firmeza. En relación a la frescura, se realizó un análisis multivariado donde se encontraron las correlaciones más importantes de acuerdo a los descriptores evaluados, y se encontró que la frescura fue el descriptor que correlacionó la mayor cantidad de descriptores sensoriales, como se muestra en la tabla 6

Tabla 6 *Correlación de la frescura con algunos descriptores sensoriales evaluados*

<i>Frescura</i>	<i>Descriptor correlacionado</i>	<i>Coefficiente de correlación</i>
	Olor herbal	0,924
	Firmeza	0,946
	Puntaje Global	0,91
	Olor vegetal	0,845

En 2014, Dinella C. y colaboradores, evaluaron ensaladas listas para el consumo, compuestas de radichio, endivias, rúgula y berro con 81 consumidores, donde encontraron que la apariencia, la fecha de vencimiento y la frescura son atributos decisivos a la hora de elegir un producto como mezcla de vegetales mínimamente procesados. Por otra parte, señales intrínsecas como procedencia orgánica, organización y marca; son factores menos importantes para seleccionar una ensalada lista para el consumo. En este estudio, se presentaron 3 muestras con 4 días de almacenamiento (t0, t3, t7, t9) y se les preguntó a los consumidores cual elegirían y porqué; luego, la lista de los descriptores escritos por los consumidores se clasificó en atributos de apariencia, sabor y olor y se obtuvo una lista de 29 descriptores; los más representativos fueron: daños en las hojas, turgencia de las hojas, apariencia verde y humedad dentro del envase; todos estos descriptores están directamente relacionados con el descriptor Frescura. Dinella C. y colaboradores evaluaron la correlación con la frescura y encontraron altas correlaciones con respecto a la

humedad del envase, la firmeza y el olor pútrido ¹⁰². Resultados similares obtuvieron Amodio M.L. y colaboradores en el 2015, quienes evaluaron una mezcla de hojas de rúgula para estimar su vida útil. Un grupo de 4 panelistas entrenados calificaron los atributos apariencia, sabor, verde, pungencia, color, textura y calidad general; en una escala de 1 a 5, y definieron 3 puntos como límite de comerciabilidad. La textura fue el descriptor que marcó el fallo sensorial en el producto evaluado, luego de 10 días de almacenamiento, seguido por la presencia de malos olores y la pérdida de ácido ascórbico ¹⁰³.

Por tanto, en esta investigación, la frescura fue el parámetro crítico por el cual las mezclas de ensaladas tuvieron un fallo determinante.

4.6. Estimación vida útil sensorial

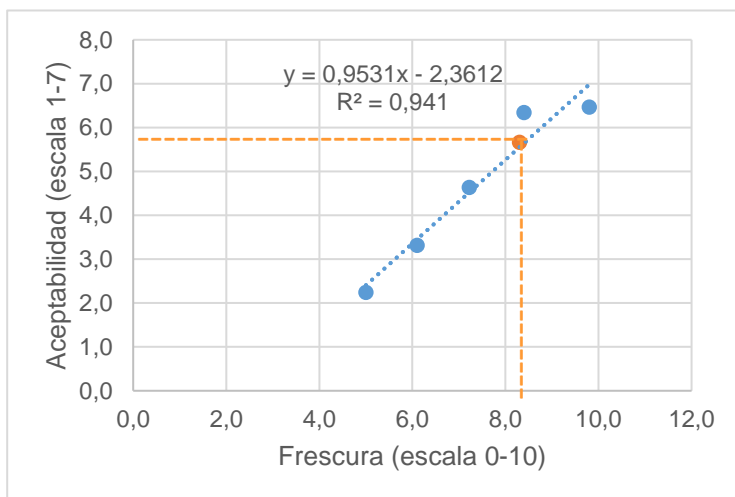


Figura 20 Aceptabilidad vs frescura. Extrapolación al punto de corte.

En el estudio realizado con consumidores, se encontró una correlación del 94% en los datos graficados entre los jueces y los consumidores, la cual se muestra en la figura 20. Por extrapolación se obtuvo un puntaje de corte COP de 8,30 lo cual muestra un valor por encima del límite crítico estipulado por los jueces para el fallo sensorial durante el estudio de estabilidad, que fueron 6 puntos.

Normalmente, el punto de corte es mucho menor que el puntaje determinado por los jueces sensoriales, así lo determinó Guillermo Hough en un estudio realizado en aceite de girasol con jueces y consumidores ⁶⁹. Patsias C. y colaboradores, encontraron un puntaje de corte igual que el

valor definido por el panel de jueces entrenado, al evaluar la aceptabilidad de pechugas de pollo; ambos tuvieron un puntaje de 6 puntos ¹⁰⁴.

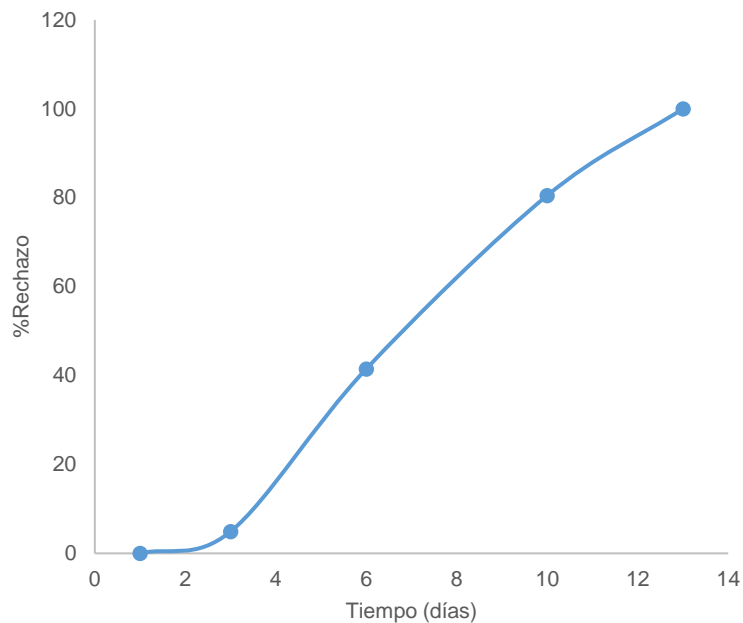


Figura 21 Porcentaje de rechazo vs tiempo de almacenamiento.

Tabla 7 Porcentaje de rechazo Vs tiempo de almacenamiento en días

Tiempo (días)	%Rechazo
1	0
3	5
6	42
10	81
13	100

Finalmente, en la figura 21, se observa el porcentaje de rechazo en el tiempo, de la mezcla A, percibida por los consumidores. En la tabla 7 se evidencia que al cabo de 6 días se tendría un porcentaje de rechazo del 42%. Algunos autores usualmente fijan un porcentaje de rechazo de acuerdo al objetivo que se tenga con la prueba, como posicionar una marca, competir en el mercado, o simplemente asegurar que un sabor u olor específico se mantenga en el tiempo, de acuerdo a la percepción del consumidor; así lo expresan Giménez A. y colaboradores en su revisión sobre punto de corte en 2012¹⁰⁵.

Gácula y colaboradores en 2008 mencionan un valor de vida útil nominal considerando el 50% de rechazo¹⁰⁶. Cardelli y Labuza en 2001 usan este criterio del 50% en cálculos de vida útil de café¹⁰⁷, mientras que Hough (2003) recomienda este porcentaje cuando estima la vida útil de yogurt⁶⁹. Giménez A. y colaboradores en 2007 usan el 25% de rechazo para estimar la vida útil de productos de panadería¹⁰⁵.

Lareo y colaboradores en 2002, evaluaron lechuga mínimamente procesada a tres temperaturas de almacenamiento, los atributos de evaluación sensorial fueron afectados significativamente ($p < 0,05$) por el tiempo de almacenamiento, soportando así la elección de estos descriptores como indicadores de deterioro de la lechuga: Apariencia marchita, presencia de manchas negras y café por daños, pardeamiento de venas centrales y malos olores. Cambios significativos en la apariencia fueron encontrados después de 10 días de almacenamiento, en todas las temperaturas evaluadas, estos resultados soportan la idea de que la vida útil sensorial de la lechuga mínimamente procesada podría estar determinada por cambios en la apariencia. En el estudio con consumidores, se encontró un porcentaje de rechazo del 10% a los 20 días de almacenamiento a 5°C¹⁰⁸.

4.7. Análisis por cromatografía de gases

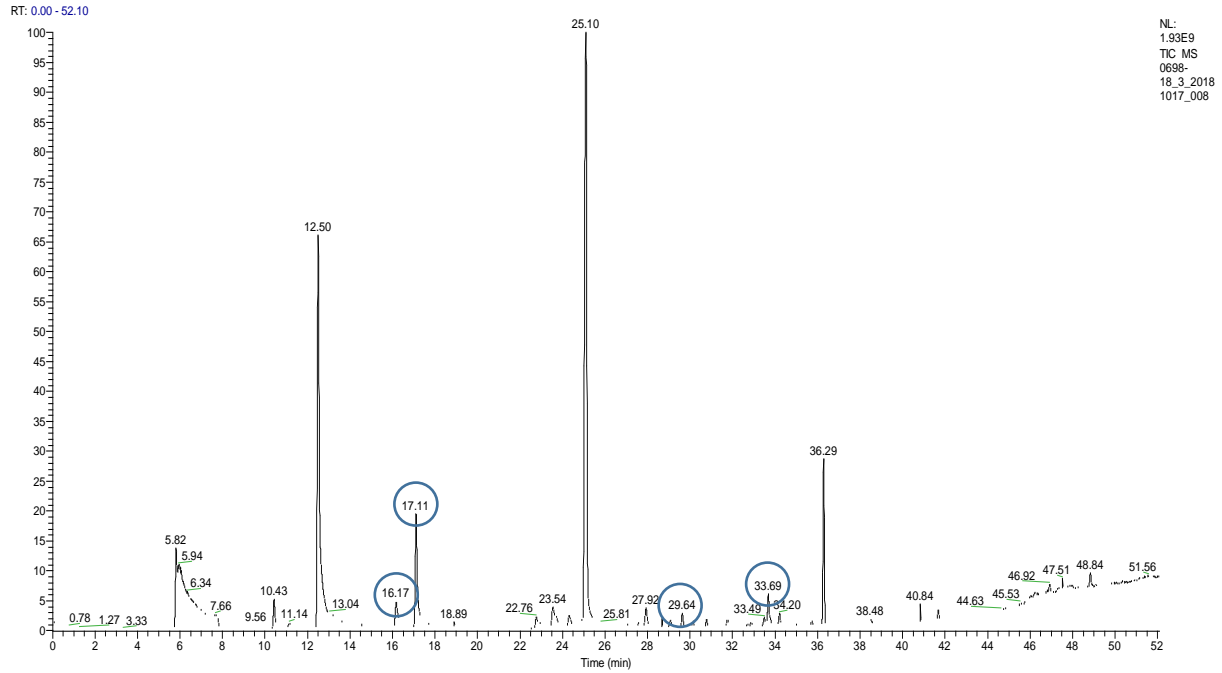


Figura 22 Cromatograma al inicio del almacenamiento para la Mezcla A (lechuga romana, kale y tomate cherry)

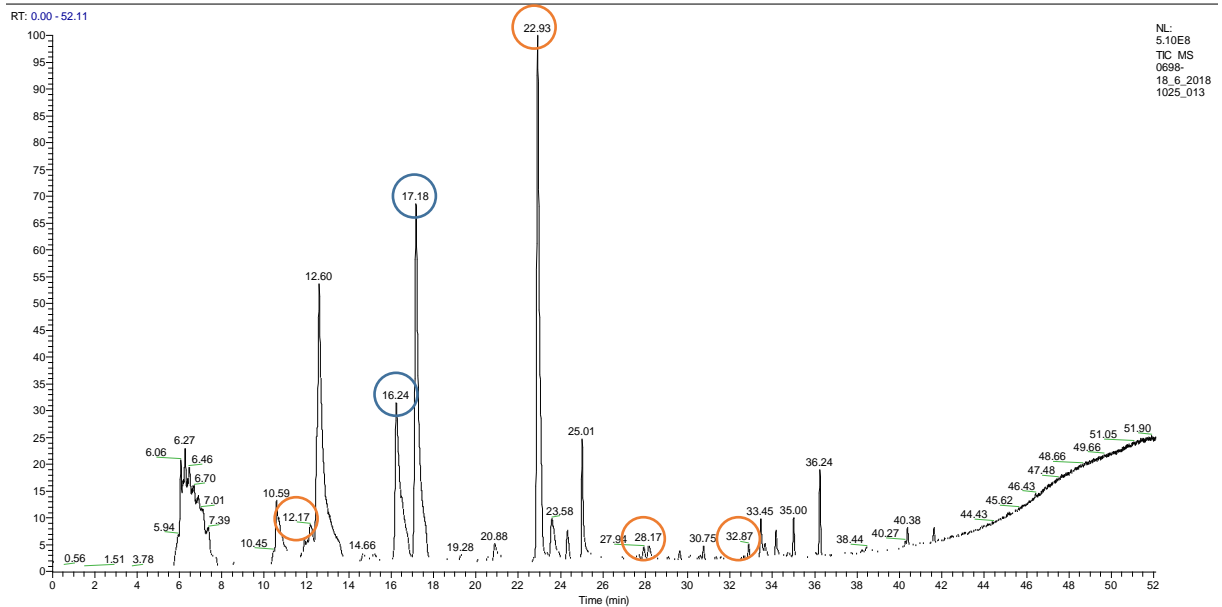


Figura 23 Cromatograma al cabo de 10 días de almacenamiento para la mezcla A (lechuga romana, kale y tomate cherry)

En las figuras 22 y 23 se muestran los resultados del cromatograma realizado al día 1 y al día 10 de almacenamiento. Los círculos azules denotan los componentes iniciales que se mantuvieron o crecieron en el tiempo, y los círculos rojos, aquellos que aparecieron al cabo de 10 días de almacenamiento. El compuesto con un tiempo de retención de 16.17 minutos, en la figura 22 y 16.24 minutos en la figura 23, aumentó considerablemente del día 1 al día 10, correspondiente al 3-Methyl Furano. Los furanos y sus derivados han sido reportados en una variedad de sistemas de alimentos ¹⁰⁹, como brócoli, coliflor, cebolla y tomate. El furfural es el más común derivado de los furanos, encontrados en tomates. En 2010 Bekalski y colaboradores encontraron cantidades de furano entre 86 y 144 ng g⁻¹ en tomates enteros y cortados ¹¹⁰.

En 2009, Concina I. y colaboradores evaluaron los contenidos de 3-Methyl Furano en tomates procesados utilizando nariz electrónica y encontraron su aumento al cabo de 48 horas. Concina I. y colaboradores relacionan el aumento de este compuesto y otros componentes orgánicos volátiles analizados, al aumento de la flora microbiana, como la presencia de *A. carbonarius*¹¹¹.

El cloroformo, que se observa con un tiempo de retención de 17.11 minutos en la figura 22, y de 17.18 minutos en la figura 23, se asocia según Díaz-Mule y colaboradores con olores florales, y dulces¹¹²; descriptores hallados por el panel de jueces, y se observa en la ficha técnica sensorial en la Figura 5. Según Taiz L. y colaboradores, los olores dulces se acentúan al final del almacenamiento, debido a productos derivados de la fermentación, principalmente alcoholes⁷⁶.

La 3-thujene y la m-mentha- 6,8 diene, fueron compuestos que predominaron el día 1, y desaparecieron para el día 10, la 3-thujene se ha encontrado en hierbas y algunas especies de eucalipto y el coriandro ¹¹³. Mientras que la m-mentha- 6,8 diene se ha encontrado en algunas variedades de lechuga y valeriana¹¹⁴.

Estos compuestos son conocidos como compuestos volátiles terpénicos (VTC), metabolitos secundarios de las plantas que ayudan a protegerlas contra los herbívoros, las infecciones por patógenos microbianos y los daños mecánicos como las heridas ⁷⁶. Los metabolitos secundarios están formados por tres grupos distintos: fenólicos (sustancias aromáticas), compuestos que contienen nitrógeno (alcaloides) y terpenos. En los últimos años, se ha hecho mucho énfasis en la biosíntesis y el papel fisiológico de los compuestos volátiles de terpeno, debido a su papel en la protección y el desarrollo de las plantas.

Los terpenos aromáticos, imparten olor herbales a los vegetales, y algunas notas refrescantes ⁷⁶. Estudios han encontrado que los monoterpenos tienen la capacidad de desempeñar un papel en la muerte celular o proceso de senescencia de la planta ¹¹⁵. Otros hallazgos han demostrado que los monoterpenos afectan las membranas biológicas al dañar su estructura, similar a lo que ocurre cuando hay un corte en las membranas o un daño mecánico.

Esta sería la razón por la cual estos compuestos aparecen en pequeña proporción al inicio, mas no al final del almacenamiento, pues inmediatamente después del corte de la hoja, los metabolitos secundarios surgen y actúan sobre los tejidos, liberando también olores herbales y vegetales.

En la figura 23 se observa la presencia de los compuestos Dimethyl sulfide y Dimethyl disulfide en los tiempos de retención 12.17 min. y 22.93 min. En 2016, Luca A. y colaboradores, evaluaron los cambios en los compuestos volátiles presentes en rúgula (*Diplotaxis tenuifolia* L.), envasada en atmósfera modificada a condiciones restringidas de oxígeno <21KPa y a condiciones moderadas >21KPa, encontrando que a condiciones moderadas (>21 KPa), el Dimethyl sulfide y Dimethyl disulfide se liberaron en mayor proporción, al igual que el 3-Methyl Furano, relacionado anteriormente. El contenido de Dimethyl sulfide y Dimethyl disulfide pasó de 0 ng g⁻¹ a 100 ng g⁻¹ al cabo de aproximadamente 100 horas de almacenamiento ¹¹⁶. Luca A. y colaboradores asocian este comportamiento a la presencia de microorganismos y proliferación de los mismos. Nielsen T. y colaboradores en 2008, también observan un incremento en la concentración de Dimethyl sulfide y Dimethyl disulfide en el tiempo, en hojas de rúgula inoculada con microorganismos aerobios mesófilos ¹¹⁷.

La presencia de 3-Hexen-1-ol y 4-hexen-1-ol-acetate, se observa en la figura 23, con tiempo de retención de 28.17 y 32.87 minutos, respectivamente. El primero, un alcohol y el segundo un éster. También encontrados por Chen H. y colaboradores en 2018, al evaluar brócoli fresco cortado, a los 0, 6 y 12 días. Chen H. asocia este compuesto con el olor verde, y expone que su contenido a los 12 días de almacenamiento es un 7,38% del contenido inicial; además afirma que los volátiles detectados en brócoli, son similares a los volátiles esenciales encontrados en hojas verdes de la familia de las *Brassicaceas* ^{118 119}, donde se ubica el Kale (*Brassica oleracea*), hortaliza involucrada en este estudio

En 2017, Díaz-Mule y colaboradores también encuentran 3-Hexen-1-ol en hojas de espinaca¹¹⁰, asociado en este estudio con olor verde, y afirman que la acumulación de alcoholes se da principalmente hacia el final del almacenamiento. El 3-Hexen-1-ol es producido a partir de la ruta del ácido linoleico formado desde el enlace 13-LOX en la ruta de la lipoxigenasa. Este compuesto es usualmente sintetizado en hojas verdes y liberado inmediatamente después del corte o daño en las estructuras celulares ¹¹⁰.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Desde el punto de vista sensorial, los descriptores encontrados están asociados a compuestos químicos de las hortalizas estudiadas, como ocurrió con los glucosinolatos y kaempferoles relacionados con el sabor amargo, sensación picante y pungente; característicos de hojas como la rúgula, el repollo y el kale. En hortalizas de raíz como la remolacha y zanahoria se asocia el sabor terroso con el 2-methoxy-3-(5-6)-isopropilpirazina, y en espinaca y tomate cherry el sabor umami se asocia al ácido glutámico.
- El comportamiento de las hortalizas respecto a la actividad respiratoria fue el esperado, evidenciándose la disminución de la concentración de oxígeno y el aumento del dióxido de carbono en el tiempo.
- El modelo enzimático de Michaelis-Menten, describe el comportamiento de las hortalizas estudiadas en cuanto a tasa respiratoria, y a su vez permite obtener un comportamiento numérico para diseñar y optimizar métodos de conservación como la atmósfera modificada.
- La aplicación del sistema de ecuaciones diferenciales permite integrar la tasa de respiración de las hortalizas estudiadas y las características del biopolímero, obteniéndose las concentraciones óptimas de los gases involucrados, que en este caso fueron para las mezclas A, C y D 12 – 13 % de oxígeno y 3,0 – 4,0 % de dióxido de carbono y para la mezcla B: 18 - 19% de oxígeno y 1 a 1,5 % de dióxido de carbono; lográndose así el equilibrio atmosférico.
- Desde el punto de vista microbiológico, las muestras estudiadas estuvieron dentro de los parámetros establecidos por el INVIMA. Las muestras envasadas en biopolímero muestran un mayor recuento de coliformes totales que las muestras en BOPP, lo cual se explica por el condensado formado en la bolsa durante el almacenamiento, generado por la permeabilidad al vapor de agua del material.
- A nivel sensorial, la frescura tuvo una alta correlación con el olor herbal, olor vegetal, la firmeza y el puntaje global; fijándose como el parámetro crítico de deterioro de las mezclas de hortalizas estudiadas. La mezcla A, con menor cantidad de hortalizas; obtuvo el mayor

tiempo de estabilidad, manteniendo la frescura por encima de 6 puntos, hasta el día 10 de almacenamiento a una temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$, según el panel de jueces entrenados.

- En la metodología de punto de corte aplicada a la mezcla con mayor estabilidad (mezcla A), se obtuvo un porcentaje de aceptación por parte de los consumidores del 60% a los 6 días de almacenamiento a una temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$, siendo un tiempo inferior al establecido por el panel de jueces entrenados (10 días); esto pudo deberse a que el 68% del grupo de consumidores evaluado, tiene una baja frecuencia de consumo (3 a 4 veces a la semana).
- El análisis cromatográfico permitió relacionar compuestos como el Cloroformo y el 4-hexen-1-ol-acetate con el olor dulce y el olor verde, atributos hallados por el panel de jueces según la ficha técnica sensorial. Además, compuestos como el Dimethyl sulfide, Dimethyl disulfide y 3-Methyl Furano se relacionan con la carga microbiana que desarrolla el producto a lo largo del tiempo de almacenamiento.
- Se comprobó el efecto del biopolímero sobre la vida útil de mezcla de hortalizas mínimamente procesadas. De manera positiva en cuanto al mantenimiento de olores herbales y vegetales de las hortalizas; además, los valores de permeabilidad del material biopolimérico permitieron ser modelados en ecuaciones matemáticas, con el fin de predecir comportamientos en la matriz.

Este estudio, enriquece el estado del arte en cuanto a la investigación y la puesta en práctica del diseño de sistemas de atmósfera modificada, integrando a través de modelos matemáticos las características de un material biopolimérico y la respuesta fisiológica de productos frescos provenientes de cultivos agroecológicos, para ofrecer como resultado un diseño de atmósfera modificada que contribuye a prolongar la vida útil de mezclas de hortalizas.

Se recomienda a futuro y de manera proyectiva, evaluar otros biopolímeros, procedentes de fuentes naturales, con una permeabilidad al vapor de agua más alta, con el fin de evitar la acumulación de condensado en el material de envase.

6. REFERENCIAS

- [1] A. E. Hernández, 2013 “Aplicación de la tecnología de barreras para la conservación individual y de mezclas de hortalizas minimamente procesadas,” Universidad Nacional de Colombia. Medellín,.
- [2] R. . Wiley, 1997*Frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas*. España,.
- [3] R. Rotondo, J. A. Ferrato, and I. T. Firpo, 2008 “Hortalizas minimamente procesadas o de IV Gama,” *Revista Agromensajes. Universidad del Rosario*. [Online]. Available: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/26/3AM26.htm>. [Accessed: 01-Feb-2017].
- [4] Z. A. Belay, O. J. Caleb, and U. L. Opara, 2016 “Modelling approaches for designing and evaluating the performance of modified atmosphere packaging (MAP) systems for fresh produce: A review,” *Food Packag. Shelf Life*, vol. 10, pp. 1–15,.
- [5] M. J. Sousa-Gallager and P. V. Mahajan, 2013 “Integrative mathematical modelling for MAP design of fresh-produce: Theoretical analysis and experimental validation.,” *Food Control*, vol. 29, pp. 444–450.
- [6] I. Arvanitoyannis and D.-W. Sun 2012, *Modified atmosphere and active packaging technologies*. CRC Press.
- [7] C. C. C. C. Yang and M. S. M. S. Chinnan, 1988. “Modeling the Effect of O₂ and CO₂ on Respiration and Quality of Stored Tomatoes,” *Trans. ASAE*, vol. 31, no. 3, pp. 0920–0925
- [8] C. G. Rao, 2016*Engineering for storage of fruits and vegetables : cold storage, controlled atmosphere storage, modified atmosphere storage*, AP. BSP.
- [9] D. S. LEE, P. E. HAGGAR, J. LEE, and K. L. YAM, 1991 “Model for Fresh Produce Respiration in Modified Atmospheres Based on Principles of Enzyme Kinetics,” *J. Food Sci.*, vol. 56, no. 6, pp. 1580–1585, Nov.

- [10] V. Siracusa, P. Rocculi, S. Romani, and M. D. Rosa, 2008 “Biodegradable polymers for food packaging: a review,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 19, no. 12, pp. 634–643.
- [11] Ministerio de Salud y Protección Social, “Resolución 4143 de 2012 Reglamento envases plásticos que entran en contacto con alimentos y bebidas.” Colombia, p. 11
- [12] Mercosur, “GMC/Res 32/10 2010.Reglamento técnico mercosur sobre migración en materiales, envases y equipamientos plásticos destinados a estar en contacto con alimentos.”
- [13] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, “Resolucion 187/2006 Colombia, 2006, Reglamento Productos Agropecuarios Ecológicos.”
- [14] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013. “Reglamento para la producción primaria, procesamiento, empaçado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación y comercialización de Productos Agropecuarios Ecológicos,” no. 1. Colombia, pp. 1–48,
- [15] E. Elías and D. La Cruz, 2016. “Abordaje desde de las políticas públicas en América Latina The Nutrition Transition . Approach from Public Policy in Latin America,” vol. 11, pp. 379–402,
- [16] El tiempo, 2015 “56 de cada 100 mujeres hoy tienen trabajo,” *El tiempo*, Bogotá, 18-May.
- [17] “Alimentación y Nutrición,” *Alimentos. Actualidad*, 2005. [Online]. Available: http://www.alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content_detail&id=133.
- [18] INVESMENT, 2016, “Alimentos procesados en Bogotá Región,” Bogotá.
- [19] OPS/OMS, 2014. “Consumo de alimentos y bebidas ultra-procesados en América Latina : Tendencias , impacto en obesidad e implicaciones de política pública en América Latina,” [Online]. Available: http://elpoderdelconsumidor.org/wp-content/uploads/2014/10/ACops-e_alimentos-bebidas-ultra-procesados-obesidad-americalatina.pdf.
- [20] Agencia de Noticias de la Universidad Nacional. 2014, “El 21,5% de los hogares colombianos consume alimentos ultra-procesados,” Bogotá.
- [21] A. Milena *et al.*, 2013. “Documento guía ALIMENTACIÓN SALUDABLE,”

- [22] La gaceta, 2015. “La OMS propone restringir la publicidad de alimentos para evitar la obesidad infantil,” *Sociedad*, Argentina.
- [23] R. Lozano Garzón, 11-Sep-2016. “Crece ‘apetito’ por los alimentos saludables,” *El tiempo*, Bogotá
- [24] Asohofrucol, 2013 “Plan Hortícola Nacional,” *Canasta Prod. del plan hortícola Nac.*, pp. 437–462.
- [25] Fedeorgánicos, 2016. “Productos orgánicos. Mas oportunidades,” *Agric. las Am.*, no. 476, pp. 32–35
- [26] Y. Xu, X. Chen, L. Xu, and B. Du, *Advanced graphic Communications*, 2015, *Packaging Technology and materials. The Research on Modified Atmosphere Packaging Preservation of Fresh-Cut Iceberg Lettuce*. Singapore
- [27] E. Torrieri, N. Perone, S. Cavella, and P. Masi, 2010. “Modelling the respiration rate of minimally processed broccoli (*Brassica rapa* var. *sylvestris*) for modified atmosphere package design,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 45, no. 10, pp. 2186–2193
- [28] J. A. Tudela, A. Marín, Y. Garrido, M. Cantwell, M. S. Medina-Martínez, and M. I. Gil, 2013 “Off-odour development in modified atmosphere packaged baby spinach is an unresolved problem,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 75, pp. 75–85.
- [29] A. Mistriotis, D. Briassoulis, A. Giannoulis, and S. D’Aquino 2016, “Design of biodegradable bio-based equilibrium modified atmosphere packaging (EMAP) for fresh fruits and vegetables by using micro-perforated poly-lactic acid (PLA) films,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 111, no. 2016, pp. 380–389.
- [30] M. Oliveira, M. Abadias, J. Usall, R. Torres, N. Teixidó, and I. Viñas, 2015 “Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 46, no. 1, pp. 13–26.
- [31] L. Jacxsens, F. Devlieghere, C. Van der Steen, and J. Debevere, 2001 “Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 71, no. 2–3, pp. 197–210.

- [32] A. Martínez-Sánchez, J. A. Tudela, C. Luna, A. Allende, and M. I. Gil , 2011 “Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 59, no. 1, pp. 34–42.
- [33] M. A. Del Nobile, A. Baiano, A. Benedetto, and L. Massignan, 2006 “Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging,” *J. Food Eng.*, vol. 74, no. 1, pp. 60–69.
- [34] D. Izquierdo and C. Naranjo, 2006 “Estandarización de las condiciones de proceso de zanahoria (*Daucus Carota*) y lechuga (*Lactuca sativa*) como productos mínimamente procesados refrigerados (MPR) obtenidos a partir de cultivos convencionales y orgánicos.,” Universidad de La Salle. Bogotá.
- [35] M. F. Castro and F. Castro, 2016 “Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia,” Medellín.
- [36] Organización de las Naciones Unidas, “Naciones Unidas,” *Objetivos de desarrollo sostenible*, 2015. [Online]. Available: <http://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>. [Accessed: 16-Mar-2017].
- [37] F. Michael, “Asociación de Consumidores Orgánicos,” *La contribución de la agroecología a los Objetivos de Desarrollo Sostenible*, 2017. [Online]. Available: <http://consumidoresorganicos.org/2017/03/14/la-contribucion-la-agroecologia-a-los-objetivos-desarrollo-sostenible/>. [Accessed: 16-Mar-2017].
- [38] S. M. Benavidez Obando, “Entrevista,” 2017.
- [39] V. Seufert, N. Ramankutty, and J. A. Foley, 2012, “Comparing the yields of organic and conventional agriculture,” *Nature*, vol. 485, no. 7397, pp. 229–232.
- [40] Nielsen, “Nielsen, 2017” *Consumo de saludables se sigue afianzando en las compras de los consumidores latinoamericanos*. [Online]. Available: <http://www.nielsen.com/co/es/insights/news/2014/saludables.html>. [Accessed: 16-Mar-2017].

- [41] Nielsen, 2015 “We are what we eat: Healthy eating trends around the world,” no. January, pp. 1–27,.
- [42] H. J. Lee and Z. S. Yun, 2015 “Consumers’ perceptions of organic food attributes and cognitive and affective attitudes as determinants of their purchase intentions toward organic food,” *Food Qual. Prefer.*, vol. 39, no. 2015, pp. 259–267,.
- [43] Vanguardia liberal, 2015 “Orgánicos, frescos y saludables, la nueva tendencia en alimentación,” *Colprensa*, Bogotá, Mar-.
- [44] V. Worthington, 3, 2001 “Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains,,” *J. Altern. Complement. Med.*, vol. 7, no. 2, pp. 161–17
- [45] J. P. Arias, “CRHOY,” 2016 *Alimentos orgánicos, una oportunidad para Latinoamérica*, Costa Rica, Mar-.
- [46] G. Xanthopoulos, E. D. Koronaki, and A. G. Boudouvis, 2012 “Mass transport analysis in perforation-mediated modified atmosphere packaging of strawberries,” *J. Food Eng.*, vol. 111, no. 2, pp. 326–335,.
- [47] I. S. Arvanitoyannis, 2012 *Modified Atmosphere and Active Packaging Technologies*, CRC Press. United States of America,.
- [48] Z. A. Belay, O. J. Caleb, and U. L. Opara, 2016. “Modelling approaches for designing and evaluating the performance of modified atmosphere packaging (MAP) systems for fresh produce: A review,” *Food Packag. Shelf Life*, vol. 10, pp. 1–15,
- [49] R. . Parry, 1993. *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods*, Springer. United Kingdom,.
- [50] D. S. Lee, K. L. Yam, and L. Piergiovanni, 2005 *Food Packaging Science and Technology*, CRC Press. United States of America.
- [51] A. S. Santana, M. Landgraf, M. T. Destro, and B. D. G. M. Franco, 2013. “Growth Potential of Salmonella and Listeria monocytogenes in Ready-to-Eat Lettuce and Collard Greens Packaged under Modified Atmosphere and in Perforated Film,” *J. Food Prot.*, vol. 76, no. 5, pp. 888–891

- [52] I. S. Arvanitoyannis, A. D. Bouletis, E. A. Papa, D. C. Gkagtzis, C. Hadjichristodoulou, and C. Papaloucas, 2011. “Microbial and sensory quality of ‘ Lollo verde’ lettuce and rocket salad stored under active atmosphere packaging,” *Anaerobe*, vol. 17, no. 6, pp. 307–309,
- [53] ICONTEC, “NTC 3884. 1996.Análisis sensorial. Guía general para el diseño de cuartos de prueba.” pp. 1–16,
- [54] ICONTEC, 2014 “GTC 165 Análisis Sensorial. Metodología. Guía general,”.
- [55] “NTC 3501 Análisis Sensorial. Vocabulario.,” 2012.
- [56] K. S. Lee, I. S. Park, and D. S. Lee, “Vegetable Salad Dish,” 1996 *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 31, pp. 7–13,.
- [57] Hayakawa K-I, Heing YS, Gilbert SG. Formulae for predicting gas exchange of fresh produce of Polymeric packaging. *J Food Sci.* 1975;40(1):186-191. doi:10.1111/j.1365-2621.1975.tb03767.x
- [58] ASTM F1249 - 13 Standard Test Method for Water Vapor Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor. <https://www.astm.org/Standards/F1249.htm>. Accessed November 13, 2018.
- [59] ASTM F2476 - 13 Standard Test Method for the Determination of Carbon Dioxide Gas Transmission Rate (CO₂TR) Through Barrier Materials Using An Infrared Detector. <https://www.astm.org/Standards/F2476.htm>. Accessed November 13, 2018.
- [60] ASTM F2476 - 05 Test Method for the Determination of Carbon Dioxide Gas Transmission Rate (Co₂TR) Through Barrier Materials Using An Infrared Detecto. <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/F2476-05.htm>. Accessed November 13, 2018.
- [61] ICONTEC. *NTC 4516:2009Microbiología de Alimentos y Productos de Alimentacion Animal. Método Horizontal Para Detección y Enumeración de Numero Mas Probable.;* <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC4516.pdf>. Accessed November 13, 2018.
- [62] ICONTEC. *NTC 4939 2001Calidad de Agua. Enumeración de Coliformes y E. Coli. Técnica Con Tubos de Fermentación.;* <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC4939.pdf>. Accessed November 13, 2018.

- [63] ICONTEC. *NTC 4574 Microbiología de Alimentos y Alimentos Para Animales. Método Horizontal Para La Detección de Salmonella*. <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC4574.pdf>. Accessed November 13, 2018.
- [64] ICONTEC. *NTC 440. Productos Alimenticios. Métodos de Ensayo.*; 2015. <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC440.pdf>. Accessed November 13, 2018.
- [65] Fonseca SC, Oliveira FAR, Brecht JK. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: A review. *J Food Eng.* 2002;52(2):99-119. doi:10.1016/S0260-8774(01)00106-6
- [66] ICONTEC. *NTC 3932. Análisis sensorial, identificación y selección de descriptores para establecer un perfil sensorial por aproximación multidimensional*. 1996.
- [67] ASTM. *ASTM E2454 - 19 Standard Guide for Sensory Evaluation Methods to Determine the Sensory Shelf Life of Consumer Products*. 2019.
- [68] ICONTEC. *GTC 292. Análisis Sensorial. Determinacion de La Vida Util de Los Alimentos.*; 2018.
- [69] Hough G, Fiszman S. 2005. *Estimación de La Vida Útil Sensorial de Los Alimentos.*;
- [70] Pasini F, Verardo V, Cerretani L, Fiorenza M, Filippo L, Antuono D. 2011. Rocket salad (*Diplotaxis* and *Eruca* spp .) sensory analysis and relation with glucosinolate and phenolic content.:(March):2858-2864. doi:10.1002/jsfa.4535
- [71] Rincón A. 2014. Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana.:(31):64-80.
- [72] Burdock GA, Fenaroli G. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*.
- [73] Price KR, Dupontyb MS, Chan HW, Fenwick GR. 1990 p.85-192 Relationship between the Chemical and Sensory Properties of Exotic Salad Crops -Coloured Lettuce (*Lactuca sativa*) and Chicory (*Cichorium intybus*).:(Long 1988):1.
- [74] Oruna-Concha M-J, Methven L, Blumenthal H, Young C, Mottram DS. 2007. Differences in Glutamic Acid and 5'-Ribonucleotide Contents between Flesh and Pulp of Tomatoes and the Relationship with Umami Taste. *J Agric Food Chem.*;55(14):5776-5780. doi:10.1021/jf070791p
- [75] Villegas, X; Ruiz H. *Villegas-Ruiz-et-al-2010.pdf*.
- [76] Taiz L, Zeiger E. 2003. *Plant Physiology*. 3rd ed.

- [77] Pereira MJ, Amaro AL, Pintado M, Poças MF. 2017. Modeling the effect of oxygen pressure and temperature on respiration rate of ready-to-eat rocket leaves. A probabilistic study of the Michaelis-Menten model. *Postharvest Biol Technol*; 131(April):1-9. doi:10.1016/j.postharvbio.04.006
- [78] Seefeldt HF, Løkke MM, Edelenbos M. 2012. Effect of variety and harvest time on respiration rate of broccoli florets and wild rocket salad using a novel O₂ sensor. *Postharvest Biol Technol.*;69:7-14. doi:10.1016/j.postharvbio.2012.01.010
- [79] Islam MZ. 2018. Effect of Temperature on the Quality and Storability of Cherry Tomato during Commercial Handling Condition. *J Bio-Environment Control*. http://www.academia.edu/37001983/Effect_of_Temperature_on_the_Quality_and_Storability_of_Cherry_Tomato_during_Commercial_Handling_Condition. Accessed November 15.
- [80] Bartz JA, Brecht JK, Weichmann J; 2003. *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. M. Dekker.
- [81] Gil TIPVML. 2008; Effect of Minimal Processing Conditions on Respiration Rate of Carrots. p. 73(8):396-402. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00923.x
- [82] Kim JG, Luo Y, Gross KC. 2004. Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy. *Postharvest Biol Technol.* p.32(1):99-107. doi:10.1016/J.POSTHARVBIO.2003.10.006
- [83] Watada AE, Ko NP, Minott DA. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biol Technol.* p. 9(2):115-125. doi:10.1016/S0925-5214(96)00041-5
- [84] Durner EF; 2013 3 ed. *Principles of Horticultural Physiology*. Wallingford: CABI. doi:10.1079/9781780643069.0000
- [85] Azcón-Bieto J, Lambers H, Day DA. 2018. Effect of photosynthesis and carbohydrate status on respiratory rates and the involvement of the alternative pathway in leaf respiration. *Plant Physiol.* 1983;72(3):598-603. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16663051>. Accessed November 15.
- [86] Mínguez MI, Pérez A, Mendez D. 2012. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantexs” naturales. p.2-7.
- [87] Rosenfeld HJ, Samuelsen RT, Lea P. 1998. The effect of temperature on sensory quality, chemical composition and growth of carrots (*Daucus carota* L.) I. Constant diurnal

- temperature. *J Horticult Sci Biotechnol.* 73(2):275-288.
doi:10.1080/14620316.1998.11510975
- [88] Glassford NJ, French CJ, Bailey M, Mårtensson J, Eastwood GM, Bellomo R. 2016; Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations. *Crit Care Resusc.* p. 18(2):78-88. doi:10.1104/pp.106.091413
- [89] FAO. 2003. Boletín de servicios agrícolas de la FAO. Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. Capítulo1. Cosecha. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN.. <http://www.fao.org/docrep/006/Y4893S/y4893s04.htm#TopOfPage>. Accessed November 21, 2018.
- [90] Castellanos DA, Cerisuelo JP, Hernandez-Muñoz P, Herrera AO, Gavara R. 2016; Modelling the evolution of O₂ and CO₂ concentrations in MAP of a fresh product: Application to tomato. *J Food Eng.* p. 168:84-95. doi:10.1016/J.JFOODENG.2015.07.019
- [91] *Microorganismos y Alimentos.* , 2018. http://www.epralima.com/infoodquality/materiais_espanhol/Manuais/3.Microorganismos_y_alimentos.pdf. Accessed November 15.
- [92] Mistriotis A, Briassoulis D, Giannoulis A, D'Aquino S. 2016. Design of biodegradable bio-based equilibrium modified atmosphere packaging (EMAP) for fresh fruits and vegetables by using micro-perforated poly-lactic acid (PLA) films. *Postharvest Biol Technol.* p.111(2016):380-389. doi:10.1016/j.postharvbio.2015.09.022
- [93] Kilcast D, Subramaniam P. 2000. *The Stability and Shelf Life of Food.* CRC Press.
- [94] Phillips CA. 1996 Review: Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *Int J Food Sci Technol.* p.31(6):463-479. doi:10.1046/j.1365-2621.1996.00369.x
- [95] Escalona VH. 2018. Use of Modified Atmosphere Packaging in Minimally Processed and Sous Vide Products. <http://www.scielo.edu.uy/pdf/agro/v21n2/2301-1548-agro-21-02-00001.pdf>. Accessed November 15.
- [96] Salvador ML, Jaime P, Oria R. 2002. Modeling of O₂ and CO₂ Exchange Dynamics in Modified Atmosphere Packaging of Burlat Cherries. *J Food Sci.* p.67(1):231-235. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb11389.x
- [97] Oliveira M, Abadias M, Usall J, Torres R, Teixidó N, Viñas I. 2015. Application of

- modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. *Trends Food Sci Technol.* p.46(1):13-26. doi:10.1016/j.tifs.2015.07.017
- [98] Gil I, Ferreres F, Toma F a. 2012. Effect of Modified Atmosphere Packaging on the Flavonoids and Vitamin C Content of Minimally Processed Swiss Chard (*Beta vulgaris* Subspecies *cycla*). *J Agric Food Chem.*p.46(500 mL):2007-2012. doi:10.1021/jf970924e
- [99] Hormazabal PA. 1999. Efecto de la IV Gama en la mezcla de lechuga (*Lactuca sativa*) tipo Escarola y palta (*Persea americana* Mill) cvs. Edranol, Hass y Negra de la Cruz.
- [100] Pacelli L, Macedo M, Garcia JF. 2007. Cucurbitacinas como fator de resistênci a insetos-praga cucurbitacins. p.127-132.
- [101] Ángel J, Valenzuela L, Javier F, et al. 2011. Efecto del almacenamiento en atmósfera controlada sobre la calidad poscosecha y nutricional del tomate. 17(2) p.115-128.
- [102] Dinnella C, Torri L, Caporale G, Monteleone E. 2014. An exploratory study of sensory attributes and consumer traits underlying liking for and perceptions of freshness for ready to eat mixed salad leaves in Italy. *Food Res Int.* p.59:108-116. doi:10.1016/j.foodres.2014.02.009
- [103] Amodio ML, Derossi A, Mastrandrea L, Colelli G. A study of the estimated shelf life of fresh rocket using a non-linear model. *J Food Eng.* 2015;150:19-28. doi:10.1016/j.jfoodeng.2014.10.030
- [104] Patsias C, Badeka A, Savvaidis IN, Kontominas MG. 2006. Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: Microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiol.* p.23:423-429.
- [105] Giménez A, Ares F, Ares G. 2012. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Res Int.* p. 49(1):311-325. doi:10.1016/j.foodres.2012.07.008
- [106] Gacula J, Singh J, Bi J, Altan S. 2008. *Statistical Methods in Food and Consumer Research.* Elsevier Science.
- [107] Cardelli C, Labuza TP. 2001. Application of Weibull Hazard Analysis to the Determination of the Shelf Life of Roasted and Ground Coffee. *LWT - Food Sci Technol.* 34(5) p.273-278. doi:10.1006/fstl.2000.0732
- [108] Lareo C, Ares G, Ferrando L, Lema P, GÁmbaro A, Soubes M. 2009. Influence of temperature on shelf life of butterhead lettuce leaves under passive modified atmosphere

- packaging. *J Food Qual.* 32(2) p.240-261. doi:10.1111/j.1745-4557.2009.00248.x
- [109] Maga JA, Katz I. 1979. Furans in foods. *C R C Crit Rev Food Sci Nutr.*11(4) p.355-400. doi:10.1080/10408397909527268
- [110] Becalski A, Hayward S, Krakalovich T, Pelletier L, Roscoe V, Vavasour E. 2010. Development of an analytical method and survey of foods for furan, 2-methylfuran and 3-methylfuran with estimated exposure. *Food Addit Contam Part A.* 27(6) p.764-775. doi:10.1080/19440040903473332
- [111] Concina I, Falasconi M, Gobbi E, et al. 2009. Early detection of microbial contamination in processed tomatoes by electronic nose. *Food Control.* 20(10) p. 873-880. doi:10.1016/J.FOODCONT.2008.11.006
- [112] Díaz-Mula HM, Marín A, Jordán MJ, Gil MI. 2019. Off-odor compounds responsible for quality loss of minimally processed baby spinach stored under MA of low O₂ and high CO₂ using GC-MS and olfactometry techniques. *Postharvest Biol Technol.* 129 p.129-135. doi:10.1016/J.POSTHARVBIO.2017.03.018
- [113] National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD20894 U. PubChem Open Chemistry Data Base. Science. doi:10.1126/science.1174621
- [114] Korankye EA. Physiology and mechanical-induced neddle postharvest (Balsam Fir). 2018. <http://dalspace.library.dal.ca/bitstream/handle/10222/73909/Ernest-Korankye-PhD-BIOL-April-2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Accessed November 25, 2018.
- [115] Hanson JR. 2003. *Natural Products.* Vol 17. Cambridge: Royal Society of Chemistry. doi:10.1039/9781847551535
- [116] Luca A, Mahajan P V., Edelenbos M. 2016. Changes in volatile organic compounds from wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia* L.) during modified atmosphere storage. *Postharvest Biol Technol.* 114: p.1-9. doi:10.1016/J.POSTHARVBIO.2015.11.018
- [117] Nielsen T, Bergström B, Borch E. 2018. The origin of off-odours in packaged rucola (*Eruca sativa*). *Food Chem.* 110(1) p.96-105. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2008.01.063
- [118] Chen H, Zhang M, Guo Z. 2019. Discrimination of fresh-cut broccoli freshness by volatiles using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry. *Postharvest Biol Technol.* 148: p.168-175. doi:10.1016/J.POSTHARVBIO.2018.10.019
- [119] Jaeger SR, McRae JF, Salzman Y, Williams L, Newcomb RD. A preliminary investigation

into a genetic basis for cis-3-hexen-1-ol odour perception: A genome-wide association approach. *Food Qual Prefer.* 21(1) p.121-131. doi:10.1016/J.FOODQUAL.2009.08.011