



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL**

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIPO DE EMPAQUE EN
LA CONSERVACIÓN DE GERMINADOS DE ALFALFA
(*Medicago sativa* L)”**

T E S I S

**Que como requisito parcial
para obtener el título de:**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Nabor Vicente Martínez



**Septiembre de 2008
Chapingo, Estado de México**



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

**“Efecto de la temperatura y empaque en la conservación de
germinados de alfalfa (*Medicago sativa* L)”**

Tesis realizada por **Nabor Vicente Martínez**, bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobada y aceptada por el mismo como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

DIRECTOR: 
Dra. Teresa B. Colinas León

ASESOR: 
Dra. Ma. Teresa Martínez Damián

ASESOR: 
Dr. Irán Alía Tejacal

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Chapingo, en particular al Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por la oportunidad de continuar con un paso más en mi formación académica y profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo para desarrollar mis estudios de maestría.

Un agradecimiento a la Dra. Ma. Teresa B. Colinas León por su acertada dirección, por su valioso apoyo y el tiempo dedicado en la culminación de esta investigación.

A la Dra. Ma. Teresa Martínez Damián, por sus aportaciones y por brindarme las facilidades para la realización de este trabajo.

Al Dr. Irán Alía Tejacal por sus acertadas aportaciones a la mejora de este trabajo.

A mis compañeros de Maestría, especialmente a: Janet Cabrera, Leticia Quintero y Ramón Huerta por brindarme su amistad y apoyo durante la estancia en la Maestría.

Dedicatoria

A mis padres:

Nabor Vicente Rosas y Teresa Martínez Mina.

A mis hermanos

Susana y Miguel Ángel.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL.....	i
INDICE DE CUADROS.....	iv
INDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Importancia Económica de Los Germinados.....	4
2.2 Composición Nutricional de Los Germinados.....	6
2.3. Protocolo de Producción de Germinados	9
2.3.1 Métodos de producción semi intensiva.	10
2.3.2 Métodos de producción intensiva.....	10
2.3.4 Fases del proceso de germinación.	11
2.4 Factores que intervienen en la germinación.....	13
2.4.1 Humedad.	13
2.4.2 Temperatura.	13
2.5 Métodos de Desinfección de la Semilla.....	14
2.6 Cambios Durante el Almacenamiento de Productos Hortofrutícolas.	16
2.7 Control de Las Pérdidas de Peso por Transpiración.	18
2.7.1 incrementó de la humedad.....	18
2.7.2 Movimiento de aire.....	19
2.7.3 Embalajes.	19

2.8 Empleo de Bajas Temperaturas Como Método de Control de Deterioro de Productos Hortofrutícolas.....	20
2.9 Métodos de Enfriamiento.....	21
2.9.1 Enfriamiento en Cuarto Refrigerado.....	22
2.9.2 Enfriamiento con Aire Forzado.....	23
2.9.3 Enfriador de Túnel.....	24
2.10 Empleo de Atmósferas Modificadas y Atmósferas Controladas.....	26
2.10.1 Atmósfera Controlada.....	26
2.10.2 Atmósfera Modificada.....	28
2.11 Envasado y Uso de Atmósferas Modificadas.....	28
2.11.1 Material de envoltura.....	29
2.12 Películas plásticas.....	29
2.12.1 Propiedades de las películas plásticas.....	30
2.12.2 Tipos de Películas Plásticas.....	31
2.13 Ventajas y Riesgos Del Uso de Películas Plásticas.....	34
2.13.1 Empacado en atmósfera modificada.....	37
2.14.2 Metabolismo Anaeróbico.....	40
2.14.3 Consideraciones Bioquímicas.....	42
2.14.4 Efecto Pasteur.....	44
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
3.1 Material Vegetal.....	46
3.2. Materiales de Empaque.....	46
3.4 Variables Respuesta Evaluadas.....	47
3.4.1. Etanol y Acetaldehído.....	47
3.4.2. Clorofilas y Carotenoides.....	48
3.4.4. Pérdida de peso.....	49
3.4.5 Medición De Respiración y Etileno.....	49

3.5 Escala hedónica	50
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	53
4.1. Pérdida de Peso.....	53
4.2 Respiración.....	57
4.3. Acetaldehído.....	63
4.4 Etanol	67
4.5 Etileno	71
4.6 Clorofilas	75
4.7 Carotenoides	79
4.8 Análisis de calidad.....	82
4.8.1 Frescura.....	82
4.8.2. Color del cotiledón	85
4.8.3. Color del hipocótilo	89
5. CONCLUSIONES	92
6. BIBLIOGRAFIA.....	94

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido nutricional de algunas semillas germinadas (100 g de materia seca)	7
Cuadro 2. Valor nutritivo y ventajas de los germinados de algunas especies.....	8
Cuadro 3. Lista de semillas sugeridas para alimentos germinados e información con respecto a métodos de producción y uso.....	12
Cuadro 4. Permeabilidad de distintos materiales a vapor de agua.	32
Cuadro 5. Permeabilidad de distintos materiales al oxígeno.....	33
Cuadro 6. Permeabilidad de distintos materiales a dióxido de carbono.....	34
Cuadro 7. Escala hedónica usada para medir la frescura, color de cotiledón y color de hipocotilo durante el almacenamiento de germinados de alfalfa.	51
Cuadro 8. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la pérdida de peso en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	53
Cuadro 9. Interacción empaque y temperatura en la pérdida de peso en germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.	55
Cuadro 10. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la tasa de respiración ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) de germinados de alfalfa durante el almacenamiento.	58
Cuadro 11. Interacción empaque y temperatura en tasa de respiración ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento. .	59
Cuadro 12. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de acetaldehído (mg de A.A / 100 g) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	63
Cuadro 13. Interacción empaque y temperatura en la producción de acetaldehído (mg de A.A / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	66
Cuadro 14. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de etanol (mg / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	68

Cuadro 15. Interacción empaque y temperatura en la producción de etanol (mg / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	70
Cuadro 16. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de etileno ($\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	72
Cuadro 17. Interacción empaque y temperatura en la producción de etileno ($\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento. 73	
Cuadro 18. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en el contenido de clorofilas (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	76
Cuadro 19. Interacción empaque y temperatura en el contenido de clorofilas (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.....	77
Cuadro 20. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en el contenido de carotenoides (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.....	79
Cuadro 21. Interacción empaque y temperatura en contenido de carotenoides (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.....	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto de temperatura y empaque en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C; (▼) Película plástica a 5 °C (■) Película plástica a 25 °C.....	82
Figura 2. Efecto de la temperatura y empaque en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C (▼) Clamshell® a 5 °C (■) Clamshell® a 25 °C.....	83
Figura 3. Efecto de la temperatura en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C ; (▼) Testigo a 5 °C (■); Testigo a 25 °C.....	84
Figura 4. Efecto de la temperatura y empaque en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C (▼) Película plástica a 5 °C (■) Película plástica a 25 °C.....	86
Figura 5. Efecto de la temperatura y empaque en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa empacados en Clamshell® durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C (▼) Clamshell® a 5 °C, (■) Clamshell® a 25 °C.....	87
Figura 6. Efecto de la temperatura en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa sin el uso de empaques durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C (▼) Testigo a 5 °C (■) Testigo a 25 °C.....	88
Figura 7. Efecto de la temperatura y empaque en el color del hipocótilo en germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C (▼) Película plástica a 5 °C (■) Película plástica a 25 °C.....	90
Figura 8. Efecto de la temperatura y el empaque en el color del hipocótilo de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C (▼) Clamshell® a 5 °C (■) Clamshell® a 25 °C.....	91
Figura 9. Efecto de la temperatura en el color del hipocótilo en germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C (▼) Testigo a 5 °C, (■) Testigo a 25 °C.....	92

“EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EMPAQUE EN LA CONSERVACIÓN DE GERMINADOS DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.)

“EFFECT OF TEMPERATURE AND PACKAGING IN THE CONSERVATION OF ALFALFA SPROUTS (*Medicago sativa* L.)”

Nabor Vicente Martínez¹ y Teresa B. Colinas León²

RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo para investigar el efecto de diferentes temperaturas de almacenamiento (1, 5 y 25 °C) y dos tipos de empaques: una película plástica de polietileno de baja densidad “Sun Wrap®” y un Clamshell® a base de polietileno tereftalato (PET), en la conservación de la calidad de germinados de alfalfa (var CUF-100) después de tres días de germinación. Se evaluó la pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, metabolitos anaeróbicos (etanol y acetaldehído) y la calidad sensorial del producto. La temperatura influyó en la calidad del producto, a temperaturas bajas se observó menor tasa de respiración, producción de etileno, así como menor producción de metabolitos anaeróbicos, sin embargo a 1 °C se presentaron daños por frío, a 25 °C se observó una mayor producción de metabolitos anaeróbicos y una mayor tasa de respiración así como una mayor pérdida de peso, por lo cual bajo estas condiciones después de 4 días de almacenamiento el producto perdió calidad. La combinación del uso de empaques y temperaturas bajas redujo las pérdidas de peso, disminuyó el contenido de clorofilas y carotenoides, y en algunos casos la presencia de daños por frío, sin embargo el uso del PET indujo la producción de etanol y acetaldehído siendo este comportamiento mayor a 25 °C.

Palabras clave: empackado, almacenamiento, producción de metabolitos, calidad sensorial.

¹Autor:

²Director de tesis:

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effect of different temperatures (1, 5 and 25 °C) and two types of packages; a plastic film of low density polyethylene Sun Wrap® and a Clamshell® of polyethylene terephthalate (PET) on the conservation of alfalfa sprouts (Var CUF-101) after three days of germination. Weight loss, respiration rate, ethylene production, anaerobic metabolites (ethanol and acetaldehyde) and sensory quality were evaluated. The temperature influenced the quality of the product. At low temperature, a lower respiration rate, ethylene production and minor anaerobic metabolites were observed. However at 1 °C, chilling injury was developed. At 25 °C a higher production of anaerobic metabolites and respiration rate were observed, together with a greater weight loss. Under this last condition, the product lost market quality after four days.

The combination of packaging and low temperature decreased weight loss, chlorophylls and carotenoid concentration but in some cases generated chilling injury. However, the use of PET induced of ethanol and acetaldehyde production mainly at 25 °C

Key words: packaging, storage, metabolites production, sensory quality

¹Author:

²Thesis director:

1. INTRODUCCIÓN

Los germinados son plantas jóvenes justo después de la emergencia de la semilla. Los mas comercializados son los de frijol mungo (*Phaseolus aureus* Roxb.). Entre otros germinados se incluyen la alfalfa (*Medicago sativa* L.), guisante verde (*Pisum sativum* L.), mostaza (*Brassica nigra* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) (DeEll, 2004).

Los criterios de calidad de este tipo de brotes dependen de la especie, sin embargo de manera general se consideran como índices de calidad la crujencia, un color blanco en los hipocótilos y amarillo o verde en los cotiledones, entre los síntomas de deterioro se incluyen el oscurecimiento de la raíz y los cotiledones, el desarrollo de estrías oscuras en el hipocótilo, y eventual desarrollo de olores desagradables durante el almacenamiento (DeEll, 2004).

Los germinados varían en textura y sabor, algunos son picantes (por ejemplo, brotes de rábano y cebolla), y otros son resistentes y con frecuencia utilizados en los alimentos de Asia (por ejemplo, brotes de frijol Mungo), mientras que otros son más delicados y se utilizan en ensaladas para añadir textura y humedad (por ejemplo, brotes de alfalfa) (Cantwell, 1997).

Se consideran como índices de madurez hortícola los días después de la emergencia, algunos se cosechan del día 1 al 8 después de la germinación según el tipo y altura de planta deseada. Los brotes de frijol Mungo son normalmente cosechados después de 3 a 8 días cuando la longitud es de 1.3 a 7.6 cm, mientras que los brotes de alfalfa se cosechan después de 1 a 2 días cuando la longitud es de 2.5 a 3.8 cm. Cabe mencionar que no hay establecidas normas de calidad por la USDA para este tipo de brotes (Cantwell, 1997).

Los germinados son productos hortícolas con alto contenido de agua, son altamente pereceros ya que solo tienen una vida útil de 3 a 4 días cuando son manejados a temperaturas ambientales, los cambios en la calidad del producto pueden ser disminuidos con el almacenamiento a bajas temperaturas (0-5 °C) y con el uso de atmósferas modificadas (Lipton, 1990). El almacenamiento refrigerado se recomienda para incrementar la vida útil de muchos productos perecederos. Sin embargo, cada especie y variedad requiere de condiciones óptimas de conservación para que se presenten condiciones favorables, principalmente determinadas por la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Wills *et al*, 1989).

Aunado al uso de temperaturas bajas el uso de películas plásticas ayuda a mantener la calidad de los germinados reduciendo la pérdida de agua. Los germinados de alfalfa se comercializan en contenedores con 112 ó 168 g de producto (DEll *et al*, 2000).

Kader (2002) indica que para germinados de alfalfa (*Medicago sativa*), frijol mungo (*Phaseolus vulgaris*) y rábanos (*Rhaphanus spp*) se recomiendan temperaturas de 0 °C, con H.R. de entre 95-100 % en estas condiciones se logran una vida de almacenamiento de entre 5 y 9 días. Para un almacenamiento temporal, se recomiendan temperaturas entre 0 y 2 °C y 90 a 95 % H.R. Para la comercialización se recomiendan temperaturas debajo de 5°C, ya que generalmente son las adecuadas para mantener la calidad.

En el presente estudio se planteó como objetivo principal evaluar el comportamiento de germinados de alfalfa al utilizar una película plástica (polietileno de baja densidad) y un empaque rígido en combinación de temperaturas bajas.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Importancia económica de los germinados.

Durante la Segunda Guerra Mundial en los Estados Unidos se prepararon condiciones para hacer de los brotes de soya un producto de primera necesidad para los norteamericanos. En aquellos años se lanzó una campaña para enseñar a prepararlos y así crear una reserva alimenticia estratégica para los tiempos de guerra. A partir de 1948 se olvidó todo este programa y no fue hasta entrado los años setenta, con el advenimiento de los aeróbicos y las campañas sobre cultura física y alimentación sana, que los alimentos germinados comienzan a tomar un papel cada vez más importante en la alimentación humana.

Desde principios de los años 70's, el uso de los germinados de semilla de alfalfa para el consumo humano se ha incrementado en todo Estados Unidos. Los germinados son considerados como fuente importante de minerales, proteínas y vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico). Partiendo de la perspectiva nutricional, los germinados de alfalfa son comparados favorablemente con otros vegetales para ensalada (Garzon, 1998).

En California, el uso de semilla de alfalfa para germinados se incrementó de 23,000 a 635,000 kg de 1970 a 1979. Durante el mismo periodo, el valor de las ventas del cultivo de germinados se incrementó de 23 mil a 8.5 millones de dólares. En 1984, se estimó que 3,200 toneladas de semilla fueron utilizadas para la producción comercial de germinados en Estados Unidos. El valor de ventas del cultivo de germinados fue de 63 millones de dólares (Garzón, 1998).

Los germinados están cobrando gran importancia ya que la forma de producirlos es muy sencilla. En lugares con mayor pobreza, el germinado puede ser una alternativa para alimentarse. Desde el punto de vista económico su producción es importante ya que por ejemplo, un kilogramo de semilla de alfalfa proporciona unos ocho kilogramos de germinados y a un precio realmente insignificante. Por cada kilogramo de semilla en el caso de calabaza la producción es de dos kilogramos de germinado obteniendo un índice de económico de 2.7; para amaranto 1.8 kg (Garzón, 1998).

Potrero (1997) reporta que en ajonjolí hay un incremento de germinado de 6-8 veces el peso inicial de la semilla. Para el frijol mungo el incremento es de 4 a 6 veces el peso inicial de la semilla.

Se menciona que el rendimiento en especies de frijol mungo y trigo es de 3 veces lo invertido, es decir cada kilogramo que se pone a germinar se obtiene 3 kilogramos de germinado, aproximadamente; muestra que para alfalfa y ajonjolí es de más de 5 veces.

2.2 Composición nutricional de los germinados.

La composición química de los germinados es de calcio, azufre, cobre, hierro, nitrógeno; todas las vitaminas y aminoácidos, 80% de clorofila, sales minerales, azúcares, enzimas, y fósforo (Michan, 1993; citado por Ramos, 1997)

La National Nutrient Database (USDA) publicó una base de datos en donde muestra el contenido nutricional de germinados de algunas especies. En el Cuadro 1, se observa el contenido nutricional de manera resumida y únicamente de las especies mas comunes de germinados reportadas a la fecha.

La semilla al momento de germinar presenta una gran actividad metabólica y cuando se consumen en este momento, puede aportar al organismo muchos beneficios. En el Cuadro 2 se mencionan algunas especies germinadas y las ventajas que se tienen al germinarlas frescas.

Cuadro 1. Contenido nutricional de algunas semillas germinadas (100 g de materia seca)

Componente	Unidad	Alfalfa	Soya	Frijol mungo	Lentejas	Bruselas	Trigo
Humedad	g	91.14	69.05	90.40	67.34	62.27	47.75
Energía	kcal	29	122	106	106	128	198
Proteínas	g	3.99	13.09	8.96	8.96	8.80	7.49
Lípidos	g	0.69	6.70	0.55	0.55	0.68	1.27
Cenizas	g	0.40	1.59	1	1	1.14	0.96
Carbohidratos	g	3.78	9.57	22.14	22.14	28.26	42.53
Fibra total	g	2.5	1.1	1.8	0	0	1.1
Azúcares totales	g	0.18	0	4.13	0	0	0
Calcio	mg	32	67	13	25	36.0	28
Fierro	mg	0.96	2.10	0.91	3.21	2.26	2.14
Magnesio	mg	27	72	21	37	56	82
Selenio	mcg	0.60	0.60	0.60	0.60	1.60	42.50
Vitamina C	mg	8.20	15.30	13.20	16.50	85	2.60
Vitamina A, UI	iu	155	11	21	45	754	0
Vitamina K	mcg	30.50	0	33.00	0	177	0
Leucina	g	0.267	0.938	0.175	0.628	0.152	0.507
Lisina	g	0.21	0.75	0.16	0.71	0.15	0.24
Valina	g	0.14	0.62	0.13	0.39	0.15	0.36
Caroteno beta	mcg	87	0	6	0	50	0
Caroteno alfa	mcg	6	0	6	0	0	0
Criptoantina beta	mcg	6	0	6	0	0	0

Fuente: Barrón, 2006.

Hamilton y Vanderstoep (1979) describieron los cambios mas importantes en la composición nutricional, que ocurren durante el desarrollo del germinado como los siguientes: incrementós en el contenido de humedad, 3 a 4 veces en el

contenido total de ácido ascórbico y de 3 veces en riboflavina (citado por Ramos, 1997).

Cuadro 2. Valor nutritivo y ventajas de los germinados de algunas especies.

Cultivo	Componente y/o actividad
Soya	Fitoestrogenos, proteínas, antioxidantes, saponinas, genisteína, ácidos grasos esenciales y aminoácidos esenciales.
Brocoli	Estimula el sistema enzimático natural, desintoxicante, reduce el riesgo de cáncer, fortalece huesos, ayuda a disminuir problemas de próstata.
Trigo	Aminoácidos esenciales, vitamina B, C y E, hierro, ácido fólico, ácidos grasos (omega 6).
Alfalfa	Clorofila, proteínas, saponinas, fitoestrogenos, potasio y calcio. Canavanina (contra cáncer de páncreas, colon y leucemia.)
Quinona	Fuente de energía, contiene proteínas, enzimas, vitaminas (Vitamina B ₆ , niacina, riboflavina, tiamina), fibra alimentaria, minerales (calcio, fósforo, cobre, magnesio, manganeso, potasio y zinc). Aminoácidos como metionina, cistina y Lisina.
Cebada	Tiene enzimas antioxidantes, actúa como desintoxicante, estimulante del sistema inmunológico, ayuda a disminuir los niveles de colesterol en la sangre. Aminoácidos: arginina, ácido glutámico, leucina, tirosina, treonina, metionina, ácido aspártico, lisina y valina. Minerales: calcio, hierro, potasio, magnesio, zinc, cobre, fósforo. Vitaminas tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, ácido fólico.
Girasol	Vitaminas B y D, aminoácidos esenciales.

Fuente: Barrón, 2006.

Kylen y McCready (1975) encontraron una concentración de proteína de $51 \text{ g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de peso fresco de germinado, lo cual puede compararse con un rango de 18 a $57 \text{ g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ reportados por otros. Algunas investigaciones han concluido que los germinados de alfalfa contienen más proteína durante la germinación. Por otro lado Hesterman y Livingston (1981) concluyeron que, aunque el porcentaje de proteína en base a peso seco fue mayor en los germinados que en las semillas sin germinar, el contenido total de proteína disminuyó medida

que las semillas germinaron; a causa del peso seco durante la germinación (citado por Ramos, 1997).

La concentración de saponinas se ha evaluado para semillas de alfalfa germinadas en laboratorio y para germinados de alfalfa producidos comercialmente. El contenido de saponinas de los germinados de alfalfa aumenta rápidamente durante los primeros cuatro días de germinación y subsecuentemente a un grado más lento (Ramos, 1997)

Livingston *et al* (1982) encontraron concentraciones de saponinas de 15 a 73 g/Kg en base a peso seco en tres cultivares de alfalfa, dependiendo del grado de desarrollo, comparado con concentraciones de saponinas de 0.1 a 0.7 g/Kg en algunos otros vegetales comunes. La harina de alfalfa es efectiva en la disminución de colesterol en el plasma sanguíneo (Citado por Barrón, 2006).

2.3. Protocolo de Producción de Germinados

Los germinados presentan características muy propias de una hortaliza como plántulas suculentas, de ciclo vegetativo corto que va de tres a diez días según la especie. Son cultivadas bajo condiciones de manejo intensivo. Se consumen en fresco y cobran gran importancia por el buen balance dietético, composición química y contenido de vitaminas (Castaños, 1993).

2.3.1 Métodos de producción semi intensiva

Este método consiste en limpiar la semilla de los residuos de cosecha, con la posterior colocación en bolsas de malla y un enjuague a chorro de agua para eliminar el polvo que pueda tener adherido la semilla. Una vez que el agua sale limpia después de enjuagar la semilla, se agrega detergente, en porción de tres gramos por litro realizando un lavado de la semilla.

Posteriormente para desinfectar la semilla se sumerge en una solución de hipoclorito de calcio al 0.06%, durante 6 horas, después de eliminar el agua clorada, se enjuga la semilla con agua limpia y se coloca en charolas de plástico, para después poner en lugar oscuro.

2.3.2 Métodos de producción intensiva

En este caso los pasos para la producción de alimentos germinados inician con selección de la semilla de acuerdo a las propiedades que se deseen. Se procede a eliminar las impurezas y a lavar la semilla con agua y detergente en polvo, se enjuaga con suficiente agua para eliminar residuos de detergente, el siguiente paso es la desinfección, una vez transcurridos los tiempos de desinfección se procede a lavar la semilla para eliminar residuos, una vez desinfectada la semilla se procede a ponerla en contenedores o charolas y se inicia el proceso de germinación.

Los tiempos de cosecha dependerán del tipo de semillas que se este germinado, por ejemplo para alfalfa los tiempos de germinación son de 3-4 días, para haba y girasol de 3-8 días, esto dependerá de la longitud deseada, o si se desea que el germinado este florecido. En este método se tienen condiciones controladas de humedad, luz y temperatura dependiendo de las características que se deseen del germinado. En el Cuadro 3, se detallan algunas características sugeridas con respecto a los métodos de producción y uso de los alimentos germinados.

2.3.4 Fases del proceso de germinación.

Según Pérez y Martínez (1994), la germinación es el resultado de una serie de acontecimientos metabólicos que van sucediendo de forma escalonada, desde la absorción del agua por parte de la semilla hasta que se inicia el crecimiento de la radícula.

- a) Fase de hidratación o imbibición: se tiene una intensa absorción de agua por los distintos tejidos que forman la semilla. Por lo general, va acompañada de un aumentó proporcional de la actividad respiratoria.
- b) Fase de germinación: durante esta fase tienen lugar en la semilla profundas transformaciones metabólicas que preparan el camino para la fase siguiente de crecimiento y son por tanto, imprescindibles para el desarrollo de la plántula, en esta fase se reduce considerablemente la absorción de agua por la semilla.

c) Fase de crecimiento: representa la última etapa del proceso de germinación y se dan cambios morfológicos visibles en la semilla como son elongación de la radícula y emergencia de hojas cotiledonales. Fisiológicamente, esta fase se caracteriza por un constante incremento de la absorción de agua y de actividad respiratoria.

Cuadro 3. Lista de semillas sugeridas para alimentos germinados e información con respecto a métodos de producción y uso.

Semilla	Longitud deseada	Tiempo medio	Consumo crudo	Tiempo de cocción
Alfalfa	1 a 1 ½ pulgada	1-3 días	si	3-5 minutos
Arroz	Longitud de semilla	3-4 días	No	8-10 minutos
Avena	Longitud de semilla	3-5 días	No	8-10 minutos
Brócoli	½ a 1 pulgada	3-5 días	Si	3-8 minutos
Col	½ a 1 pulgada	3-5 días	Si	3-8 minutos
Rábano	½ a 1 pulgada	2-4 días	Si	-
Soja	¾ a 1 pulgada	4-6 días	Si	10-20 minutos
Trigo	Longitud de semilla	4-5 días	Si	8-10 minutos

Fuente: <http://www.funprojal.org.mx/tecnología/germinados/index.htm>

2.4 Factores que intervienen en la germinación.

2.4.1 Humedad.

Para que la semilla vuelva a un metabolismo activo, es necesario que sus tejidos se rehidratan. Por ello la semilla debe estar en contacto físico con el agua; en la mayoría de las semillas, un exceso de agua es desfavorable para la germinación, ya que dificulta la llegada del oxígeno al embrión (Pérez *et al*, 1994).

2.4.2 Temperatura.

La temperatura es un factor decisivo en el proceso de germinación. Tiene la capacidad para influir en los procesos enzimáticos que regulan las reacciones bioquímicas que ocurren en las semillas, tras su hidratación, la actividad de cada enzima tiene un máximo y un mínimo de temperatura.

La temperatura mínima es aquella por debajo de la cual la germinación no se realiza, y la máxima aquella por encima de la cual el proceso se anula. Las semillas de especies tropicales suelen germinar a temperaturas elevadas superiores a 25° C, mientras que las especies originarias de zonas frías, germinan a temperaturas bajas 5 a 15 ° C (Pérez *et al*, 1994).

Según Domínguez (1992), la temperatura óptima para producir germinados de frijol mungo está entre 20 a 30° C, ya que a temperaturas inferiores el tiempo es tardado y en algunas ocasiones se llega a detener.

2.5 Métodos de desinfección de la Semilla.

Uno de los pasos mas importantes en la producción de germinados es la desinfección de la semilla ya que un mal proceso de desinfección tendrán efectos en la calidad microbiológica de los germinados.

En años recientes se han venido incrementando brotes de *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7, asociado con el consumo de alimentos germinados. En muchos de estos ha estado involucrado el consumo de germinados de alfalfa, sin embargo los mayores reportes de brotes por consumo de germinados han estado relacionados con el consumo de germinados de rábanos. Para aumentar la seguridad de los germinados se han propuesto normas que incluyen buenas practicas de manufactura desinfección de las semillas y test de detección de *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 (Gandhi *et al.*, 2003).

The National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods recomendó el uso de 20,000 ppm de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ como tratamiento de desinfección para producción de germinados, sin embargo las condiciones en las cuales los germinados son producidos, conducen al desarrollo de muchos tipos de bacterias tales como *E. coli*, *Salmonella* y otras bacterias enteropatógenas. Es por esto que los que si se desinfecta la semillas no se elimina por completo al patógeno, por lo cual el organismo puede crecer durante la germinación y crecimiento del germinado, a niveles de causar enfermedades a humanos (Gandhi *et al.*, 2001)

Gandhi y colaboradores (2003), probaron la eficacia de hipoclorito de calcio a 20,000 ppm, en semillas de alfalfa contaminadas artificialmente con *salmonella*, en este experimento las poblaciones de *Salmonella* alcanzaron mas de 7.0 log en germinados de semillas contaminadas artificialmente con *Salmonella*. La eficacia de la aspersión de cloro (100 ppm) para eliminar *Salmonella* durante la germinación y crecimiento de alfalfa fue evaluada. La semilla de alfalfa contaminada artificialmente con *Salmonella* fue tratada al día 2 y al día 4., el crecimiento fue mínimamente efectivo en el día 4 resultando un descenso de aproximadamente -0.5 log en las poblaciones de *Salmonella*.

Fett (2002) reportó que la adición de compuestos antimicrobianos al agua de riego no redujo los niveles de la microflora nativa asociada con germinados de alfalfa por mas de 1 log. Según Isshiki *et al.* (1994) uno de los productos que mejores resultados tienen en la eliminación de este tipo de patógenos es el Calcinato de calcio por lo que se recomienda el empleo del mismo a concentraciones de 100 ppm (citado por Gandhi *et al.*, 2003).

En estudios realizados por Singh *et al* (2003), se probó la desinfección con dióxido de cloro, tratamientos con ozono y aceite esencial de tomillo. Para la eliminación de *E. coli*. Otros métodos de desinfección involucran el uso de compuestos como H₂O₂, ácido peroxiacético mas peróxido de hidrogeno (Tsunami 100TM), NaClO₂ (AquatizeTM), EDTA, NaPO₄. Cuando se adiciona al agua de riego a varias concentraciones, reduce los niveles de la microflora nativa por más de 1 log₁₀.

Añadiendo hipoclorito de calcio entre 0.05 y 0.20 g por litro de agua para regar con agua a una solución entre 50 y 200 ppm (0.005 y 0.020%). Este es el tratamiento recomendado para desinfectar el agua para riego de germinados y para lavar verduras y vegetales frescos después de la cosecha. En el caso que el agua de riego presente mayores riesgos de microorganismos patógenos, los germinados se pueden regar con agua tratada con 0.3g de hipoclorito de calcio; esto es, incrementando la dosis de hipoclorito (William, 2002).

2.6 Cambios durante el almacenamiento de productos hortofrutícolas.

La gran mayoría de los productos hortofrutícolas sufren una serie de cambios después de la cosecha, tales como; daños mecánicos, ataque de patógenos, pérdida de humedad, daños por frío y daños por sensibilidad al etileno, por lo que su conservación poscosecha dependerá del adecuado manejo.

Cuquerella *et al.* (1983) enfatiza en que la mayoría de los productos hortofrutícolas una vez recolectados evolucionan de una manera gradual hacia la senescencia con pérdida de la calidad debido a factores como: pérdida fisiológica de peso por transpiración, aumento del índice de madurez con pérdida de sabor y aroma, cambios en textura y color, disminución del contenido de vitamina C, aparición de alteraciones fisiológicas, y desarrollo de microorganismos.

De manera general en los alimentos germinados los síntomas de deterioro incluyen: oscurecimiento de raíz y cotiledones, desarrollo de rayas oscuras en hipocótilo, y eventual desarrollo de viscosidad, sin embargo las mayores

pérdidas en este tipo de productos se dan por pérdida de turgencia como resultado directo de las pérdidas de agua en el producto. Los germinados varían en textura y sabor: algunos son picosos (ejemplo germinados de rábanos y cebollas) por lo que durante el almacenamiento estas propiedades se ven afectadas (DeEll *et al.*, 2000).

Las pérdidas de peso durante el almacenamiento constituye el principal factor en el deterioro poscosecha de frutos y hortalizas. Las pérdidas de agua debidas a este fenómeno, además de reducir el peso del producto, afectan su calidad e induce cambios indeseables en la textura causando encogimiento, deshidratación y ablandamiento (Grierson y Wardosky, 1978).

Las pérdidas de agua representan un descenso de peso comercial y por lo tanto una disminución de su valor en el mercado, de ahí la utilidad de las medidas tendientes a minimizar las pérdidas de agua que puedan tener lugar después de la recolección. Pérdidas de solo 5 % marchitan y arrugan numerosos productos, que en ambientes secos y cálidos pueden ocurrir en unas pocas horas. Incluso sin que lleguen a marchitarse, las pérdidas de agua disminuyen la tendencia a crujiar al ser masticados los productos, en numerosas hortalizas causan alteraciones de color y otras propiedades organolépticas (Wills *et al.*, 1998). El control de humedad relativa es fundamental durante el almacenamiento de productos hortofrúctícolas, altas humedades relativas minimizan la transpiración y pérdida de agua de los productos, también ayuda a algunos productos a mantener su vigor y a retardar la senescencia; se han reportado que humedades cercanas a la saturación son particularmente

favorables, para la conservación de diversos productos, sobre todo aquellos con alta sensibilidad al marchitamiento, pudiéndose incluso aumentar el tiempo de conservación en un 50 %. Sin embargo, las tasas elevadas de humedad también pueden ocasionar condensaciones, desarrollos de hongos, piel agrietada, falta de aroma, y mayor deterioro en ciertos productos además de que favorecen la acción negativa del etileno y CO₂ acumulados en el almacén (Pérez, 1994).

2.7 Control de las pérdidas de peso por transpiración

Los métodos disponibles para aminorarlas se hallan por tanto limitados a reducir la capacidad de absorción de agua del aire con el que contactan las frutas y hortalizas frescas, descendiendo su temperatura o aumentando su humedad, es decir reduciendo la diferencia de presión de vapor entre el producto y el aire y a interponer una barrera que impida o dificulte el paso del agua. La pérdidas de agua se puede evitar aplicando ceras u otros recubrimientos superficiales resistentes al agua o mediante un embalaje adecuado (Wills *et al.*, 1998).

2.7.1 incrementó de la humedad

Un método para reducir las pérdidas de peso por transpiración de frutas y hortalizas consiste en aumentar la humedad relativa del aire de su entorno reduciendo así las diferencias de presión de vapor entre el producto y el aire y por tanto la cantidad de agua que sería necesario evaporar para que el aire

estuviera saturado de agua, el inconveniente es que favorece el crecimiento de los hongos y en el caso de algunos productos conduce a la putrefacción (Wills *et al.*, 1998).

2.7.2 Movimiento de aire.

El movimiento de aire sobre el producto es un factor importante en la determinación de las pérdidas de agua. Para arrastrar el calor almacenado en el producto es necesario que el aire circule. Cuando más de prisa se mueva el aire sobre la superficie del producto mayor será la velocidad a la que el producto pierda agua (Wills *et al.*, 1998).

2.7.3 Embalajes.

Las pérdidas de agua pueden reducirse colocando una barrera física que dificulte el movimiento del aire entorno al producto. El más simple de los métodos consiste en cubrir la fruta con toldos o empacarlas en sacos o cajas de madera o cartón o con películas para el caso de productos empacados individualmente (coles y lechugas). La extensión en que el envasado reduce la velocidad de pérdida de peso depende de la permeabilidad del envase al vapor y de lo apretado que se encuentre el producto en su interior. Los materiales ordinariamente utilizados son permeables al agua en algún grado. Debe tenerse en cuenta la capacidad de absorción de agua de los materiales de embalajes (Wills *et al.*, 1998).

2.8 Empleo de bajas temperaturas como método de control de deterioro de productos hortofrutícolas.

Como se ha venido mencionando la cosecha no es la fase final de la vida de los productos hortofrutícolas, sino que son organismos vivos que experimentan una serie de procesos físicos, químicos y fisiológicos que controlan sus características cualitativas durante su manejo y comercialización (Saucedo, 1981).

Todos estos factores pueden estar estrechamente relacionados y a su vez influenciados por la temperatura. Por lo que comprendiendo las causas de descomposición y sus relaciones con la disminución de la temperatura, es posible incrementar su vida útil (Saucedo, 1981).

Si la temperatura permanece alta, la transpiración, respiración y los procesos metabólicos en las frutas y hortalizas serán intensos, y en general conducen a cambios muy rápidos. Entonces es necesario enfriar el producto tan rápidamente como sea posible, este enfriamiento reduce pérdidas de agua, reduce o inhibe el desarrollo de microorganismos, y abate la velocidad de los procesos metabólicos. La temperatura del medio ambiente debe reducirse a la de almacenamiento en un lapso de 24 h. (Luh y Woodroof, 1975; Instituto Internacional del Frío, 1979; citado por Saucedo, 1981).

2.9 Métodos de Enfriamiento.

Saucedo (1981), menciona que los sistemas que se emplean a nivel comercial, para el preenfriado son:

1. Hidrorrefrigeración (Hydrocooling).
2. El aire frío en sus diversas modalidades de aplicación:
 - Cámaras normales (Room Colling).
 - Flujo de aire (Air Jet Cooling o Ceiling Jet Cooling)
 - Aire frío forzado (Air Torced Cooling)
3. El enfriamiento mediante vacío (Vacuum Cooling)
4. La estratificación con hielo (Top y Body Icing).

Cada uno de estos sistemas presenta ventajas y desventajas que provocan determinados efectos en la calidad del producto y presentan ciertas exigencias técnico-económicas.

Para evaluar la eficiencia de cada uno de los sistemas el factor más importante por considerar, está dado por el tiempo que se emplea en reducir la temperatura de un producto hasta el punto deseado. Los tiempos de enfriamiento son siempre de tipo exponencial, es decir, la temperatura experimenta una continua disminución a medida que el producto se acerca a la temperatura del medio de enfriamiento; además, la velocidad de enfriamiento tiene un comportamiento diverso que está en función de la temperatura inicial y final del producto (Saucedo, 1981). Para el enfriamiento de frutos en escala

pequeña Thompson *et al.* (2002), recomienda el uso del cuarto refrigerado y para escala grande recomienda el uso de aire forzado, aunque también se puede usar el cuarto refrigerado.

2.9.1 Enfriamiento en cuarto refrigerado.

Es el método más común de enfriamiento; en ella se exponen al producto al aire frío, en un almacén, en cajas de madera o cartón o en recipientes de gran tamaño. Para que el enfriamiento sea adecuado las velocidades del aire en torno a los recipientes que contienen los productos a refrigerar debe ser de al menos $60 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, tanto el diseño como su funcionamiento son bastantes simples. Los productos pueden enfriarse y almacenarse en el mismo lugar; las cargas máximas son menores que las que se dan en los métodos de enfriamiento más rápidos. El enfriamiento es lento y puede no ser adecuado para los productos más sensibles (Wills *et al.*, 1998).

Este método no difiere mucho de la refrigeración, con excepción de que los productos empacados se estiban con espacios entre las filas de cajas. El aire frío se descarga con un extractor y se movilizan de manera casi horizontal por debajo del techo y luego en flujo vertical hacia el piso, posteriormente regresa a la entrada del extractor. El aire frío entra en contacto con los recipientes y productos durante su trayectoria hacia abajo y su flujo de retorno. La superficie en contacto con el aire frío se enfría principalmente por convección y el calor contenido en los productos se transfiere a la superficie fría por conducción, al evaporador de la cámara (Liu, 1992).

La temperatura del aire de enfriamiento puede estar en el punto de congelación o varios grados por debajo, cuando no hay peligro de congelar el producto. Y con una velocidad de flujo de aire de al menos $61 \text{ a } 122 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ($1 \text{ y } 2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$), (Kader, 1992).

2.9.2 Enfriamiento con aire forzado.

El enfriamiento con aire forzado es una modificación del método anterior, y es un método ampliamente usado para frutas y hortalizas, en este sistema el aire es forzado a moverse a través de recipientes o envases ventilados (contenedores o empaques) y entra en contacto directo con los productos.

El aire puede ser forzado a pasar a través de los recipientes, de tal forma que se produzca una ligera diferencia de presión entre los lados opuestos de ellos. Los recipientes deben tener orificios de ventilación de tamaño suficiente y no debe tener materiales de envoltura que bloqueen el flujo de aire a través de ellos. La diferencia de presión se genera utilizando extractores que jalan el aire de un extremo y lo hacen pasar por el interior de ellos en vez de pasar sólo por su alrededor. Los cuartos con ventilación natural pueden convertirse a cuartos de enfriamiento de aire forzado utilizando buenas técnicas de estibado y deflectores para aire. (Liu, 1992).

La velocidad de flujo de aire en el sistema de enfriamiento con aire forzado es más alta que en el caso del enfriamiento por convección natural. La velocidad de enfriamiento en cuartos de aire forzado es de 4 a 10 veces mas rápida que en los cuartos de convección natural. El costo de enfriamiento con aire forzado

es más alto que el de convección natural, porque el primero requiere de abanicos y de una capacidad de refrigeración más alta (Liu, 1992).

La velocidad de enfriamiento por aire frío puede incrementarse de un modo considerable si se aumenta la superficie de transferencia de calor sustituyendo la del envase por la suma de todas las de los productos a enfriar. Forzando al aire a través de los envases, en torno de cada una de las piezas pueden enfriarse en un 1/4 a 1/10 del tiempo requerido en el hidrogenamiento. El enfriamiento en cámara fría extrae el calor sólo por una de la superficie de los envases, siendo la forma y el tamaño los mismos factores limitantes de la velocidad de enfriamiento (Wills *et al.*, 1998).

Además con este sistema se tiene la ventaja de que el empaque no se humedece, y se logran un enfriamiento homogéneo y rápido a comparación de las cámaras normales (Nicolás, 1993). Existen varios procedimientos de enfriamiento por aire forzado uno de ellos es el de túnel.

2.9.3 Enfriador de túnel.

El enfriador de túnel es el diseño más común para forzar al aire a través del producto ya empacado. Las tarimas de producto se colocan en dos filas paralelas, dejando un canal abierto en medio (Figura 2) se pone una lona para cubrir el canal central y un ventilador de extracción ubicado en el extremo succiona el aire del canal, obligando al aire frío a pasar a través del producto. El aire caliente que es removido se envía hacia los serpentines del evaporador, es reenfriado y regresado al cuarto frío (Thompson, 2002).

En los túneles de refrigeración, se emplean velocidades de aire entre 200 y 400 m·min⁻¹. El aire frío se desliza sobre la superficie de la fruta mientras que los recipientes se desplazan a través del túnel. Se ha perfeccionado una técnica, que expone el producto, en recipientes perforados, con el aire a una presión mas elevada en una de sus caras (Wills *et al.*, 1998).

Los productos deben retirarse del túnel en cuanto hayan sido adecuadamente enfriados; de otro modo se producirían pérdidas excesivas de agua. Se han desarrollado diversos sistemas que enfrían y humidifican el aire utilizando en los túneles, al objeto de minimizar las pérdidas de agua durante el periodo de enfriamiento (Wills *et al.*, 1981).

Para germinados de alfalfa (*Medicago sativa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y rábanos (*Rhaphanus spp*) se recomiendan temperaturas de 0 °C (32°F), con humedades relativas de 95-100% en estas condiciones se logran una vida de almacenamiento de 5-9 días (Kader, 2002). Para almacenado temporal, se recomiendan temperaturas de 0 a 2°C y 90 a 95% de humedad relativa. Para el mercado se recomiendan temperaturas debajo de 5°C, ya que generalmente son las adecuadas para mantener la calidad (Kader, 2002).

Bharathi *et al.*, (2001), estudiaron el efecto de la temperatura en el crecimiento de *Escherichia coli* en zanahorias, calabazas y tomates mínimamente procesados, las variables del inóculo inicial fueron (4.3, 5.3 y 6.3 log₁₀ UFC/g), las temperaturas de almacenamiento fueron (2, 9 y 16 °C) y periodos de almacenamiento de (2,6 y 10 días). El almacenamiento de los mínimos procesados a 2° C, no mostraron un incremento en las poblaciones de *E. coli*.

A 9 y 16 ° C, se observó un incremento progresivo en las poblaciones de *E. coli*, siendo mas rápido a 16 ° C.

2.10 Empleo de atmósferas modificadas y atmósferas controladas

El envasado en atmósferas controladas, modificadas o al vacío (CA, MA, VA) actualmente es una de las tecnologías de conservación en alimentos mas importantes. El volumen de alimentos que se distribuyen envasados en CA, MA VA supera al de los distribuidos en bandejas o bolsas tratados por el calor y envasados asépticamente (Parry, 1993).

La calidad de los productos envasados en CA, MA, VA se considera superior a la de los procesados térmicamente, como los enlatados o los tratados con calor y envasados asépticamente. La mayoría de los productos envasados con la tecnología de CA/MA/VA mantienen una cierta actividad respiratoria o contienen microorganismos metabolitamente activos. Dichas actividades consumen el oxígeno presente en el aire produciendo dióxido de carbono y vapor de agua que cambian la atmósfera (Parry, 1993).

2.10.1 Atmósfera controlada.

El proceso de almacenamiento en atmósfera controlada (AC) es posible que sea la innovación más importante en el almacenamiento de frutas y hortalizas desde la producción de la refrigeración mecánica. Este método, si se combina con la refrigeración, retarda en forma marcada la actividad respiratoria y puede retardar el ablandamiento, los cambios en calidad y otros procesos de

descomposición, manteniendo una atmósfera con más CO_2 y menos O_2 que el aire normal (Pantastico, 1979).

La atmósfera controlada consiste en modificar intencionalmente la atmósfera gaseosa natural. La atmósfera controlada comprende generalmente a la tecnología que se aplica en el almacenamiento durante el cual se asegura una atmósfera constante independientemente de las actividades respiratorias del producto, intercambio de gases etc., así el CO_2 , O_2 , CO , C_2H_4 , acetileno o N_2 pueden ser manejados para obtener diversas combinaciones de gases (Brody, 1996).

La respiración es uno de los procesos metabólicos influenciados por el almacenamiento en AC. Blackman y Parija (1928), sugirieron la hipótesis siguiente: La AC puede influir en la respiración en tres niveles: (a) en la respiración aeróbica, (b) en la respiración anaeróbica y (c) en la combinación de ambas. La respiración aeróbica se efectúa cuando la provisión de oxígeno es normal y da como resultado la liberación de CO_2 y agua. La respiración anaeróbica, efectuándose en atmósfera desprovista por completo de O_2 , produciendo CO_2 y alcohol etílico por fermentación. Cuando el oxígeno es bajo ambos procesos funcionan en cierto grado, que depende de las concentraciones relativas de O_2 . La respiración aeróbica y la utilización mínima de azúcar. Sin embargo, los procesos metabólicos de los productos son tan complicados que ni las concentraciones elevadas de CO_2 , ni las reducidas de O_2 , son métodos por completo satisfactorios para cambiar la cadena de reacciones que intervienen en la respiración.

2.10.2 Atmósfera modificada

La atmósfera modificada consiste en cambiar inicialmente la atmósfera gaseosa en el entorno del producto, permitiendo que las actividades del producto envasado ocasionen una variación del entorno gaseoso en las inmediaciones. El material de envasado y el propio envase permiten la difusión de oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua, de modo que pueden producirse cambios adicionales en la atmósfera (Brody, 1996). El empaque en la atmósfera modificada es extensamente utilizado en la comercialización de frutas y vegetales mínimamente procesadas (Kader, 2002).

2.11 Envasado y uso de atmósferas modificadas.

El envasado en atmósfera modificada es un método de conservación en la mayoría de los productos intactos y frescos cortados, es un suplemento necesario de la frigoconservación para reducir así la tasa de deterioro y deshidratación en forma más efectiva. La selección de la película plástica (material de envasado) es clave para lograr un balance entre la demanda de oxígeno (por respiración del producto) y la permeabilidad de la película al oxígeno y bióxido de carbono. Se deben de considerar varios factores inherentes al producto (tasa de respiración) y las concentraciones de equilibrio de O_2 y CO_2 y vapor de agua área superficial total del envase sellado y volumen libre dentro del empaque (Schlimme y Rooney, 1994).

Kader (2002), señala que la exposición de un fruto a un ambiente con concentraciones equivalentes de O_2 Y CO_2 menor y mayor a 5 kpa respectivamente, causa una disminución en la tasa de respiración y acción del etileno, reducción en la degradación de clorofilas y síntesis de antocianinas y carotenoides.

Kader (2002) afirma que las bajas concentraciones de O_2 y altas de CO_2 inducen a una ruta de fermentación y una de ellas es la acumulación de acetaldehídos y etanol catalizados por la enzima piruvato descarboxilasa (PDC) y etanol deshidrogenasa (EDH), respectivamente.

2.11.1 Material de envoltura

El empaquetado es acondicionar las frutas y a hortalizas para que puedan ser manejadas, transportadas distribuidas y presentadas al consumidor, de forma que no se dañen, no se ensucien ni contaminen, queden atractivas, y además respondan a toda una serie de normalizaciones que cumplan con las directrices oficiales,, las compuestas por los clientes y las que, de alguna manera, satisfagan los gustos, las necesidades, la información y la demanda de los consumidores (Mazzus, 1996).

2.12 Películas plásticas

Según Di Giogia (1995), el empaque tiene como finalidad dar al producto envasado una mayor protección y resistencia al manipuleo en el almacenaje y

transporte. Se logra con esta mayor protección, reducir los efectos posibles de los riesgos, conservando el valor del producto contenido.

La elección del material de envoltura es una parte extremadamente importante de la operación de envasado en atmósfera modificada, entre los productos mas empleados tenemos a los laminados de polietileno, poliéster, naylon, polietileno, policloruro de vinilo, polipropileno orientado (Parry, 1993).

2.12.1 Propiedades de las películas plásticas.

En el almacenamiento en AM, se crea y se mantiene una atmósfera diferente a la natural alrededor del producto, empleando para ello recubrimientos de materiales poliméricos con permeabilidades selectivas a los gases de respiración (Saucedo, 1989).

De acuerdo a Yahia (1993) es necesario considerar varios factores importantes para crear y mantener sistemas de empaque en AM, tales como:

- 1) Tipo de alimento y su velocidad metabólica (consumo de O_2 y producción de CO_2).
- 2) Las características del material de empaque, permeabilidad a los gases y vapor de agua.
- 3) La atmósfera adecuada para el alimento.
- 4) Los niveles de tolerancia del alimento a los distintos gases.

2.12.2 Tipos de películas plásticas

De acuerdo con Yahia (1993), existe un gran listado de películas plásticas con características distintas con respecto a su permeabilidad a los diferentes gases y al vapor de agua, facilidad de sellado, resistencia mecánica, compatibilidad con el producto, etc. Dependiendo del tipo de alimento y de la atmósfera necesaria se selecciona la película adecuada. En el Cuadro 4 y 5, se presentan algunas películas plásticas con su respectiva permeabilidad.

Es muy importante conocer los niveles de gases óptimos para cada fruta. Niveles de O_2 más bajos o niveles de CO_2 más altos que el nivel de tolerancia del alimento puede ocasionar daños y pérdidas (Yahia, 1995 a).

En el Cuadro 6 y 7, se mencionan algunas de las películas plásticas empleadas en la industria alimentaria y sus características de permeabilidad al CO_2 , O_2 y a vapor de agua.

Cuadro 4. Permeabilidad de distintos materiales a vapor de agua.

Material	Permeabilidad	Referencia
Acetato de celulosa	1163-1395 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ 22000 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kpa ⁻¹	Yahia, 1992 Cameron <i>et al.</i> , 1995.
Cloruro de polividieno	31.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹	Yahia, 1992.
Cloruro de polivinilideno	1.5-5 g.m ⁻² .día ⁻¹ 38.7° C y 90% H.R	Schlimme y Rooney, 1997.
Cloruro de polivinilo	140-171 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ 3900 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kpa ⁻¹	Yahia, 1992. Cameron <i>et al.</i> , 1995.
Copolimero acetato de vinilo	60 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R.	Schlimme y Rooney, 1997.
Etilcelulosa	310 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹	Yahia, 1992
Foil de aluminio laminado	0.48 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 38° C	Ammawath <i>et al.</i> , 2002.
Goma hidrocolada	> 8 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R.	Schlimme y Rooney, 1997.
Laminado de poliamina	5-7 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 23° C	Giménez <i>et al.</i> , 2002.
Lonómero	22-30 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R.	Schlimme y Rooney, 1997.
Metil celulosa	3100 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹	Yahia, 1992
Nylon-6	126.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹	Yahia, 1992
Policarbonato	10.9-17.1 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹	Yahia, 1992
Poliestireno	1000-26000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ 108.5-155 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R	Yahia, 1992 Schlimme y Rooney, 1997.
Polietileno de alta densidad	4-10 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R	Schlimme y Rooney, 1997.
Polietileno de baja densidad	868 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 5-7 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 23° C 8.77 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 38° C 7700-77000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ 6-23.2 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Giménez <i>et al.</i> , 2002. Ammawath <i>et al.</i> , 2002. Yahia, 1992 Schlimme y Rooney, 1997.
Polietileno de media densidad	8-15 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R	Schlimme y Rooney, 1997.
Polipropileno	7.67 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 38° C 7700-21000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ 4-10.8 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 37-8°C y 90% H.R 280 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹	Ammawath <i>et al.</i> , 2002. Yahia, 1992 Schlimme y Rooney, 1997. Cameron <i>et al.</i> , 1995.
Polipropileno orientado	6.61 g.m ⁻² .día ⁻¹ a 38° C	Ammawath <i>et al.</i> , 2002.

Cuadro 5. Permeabilidad de distintos materiales al oxígeno.

Material	Permeabilidad	Referencia
Acetato de celulosa	10 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 1814-2325 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Yahia, 1992
Cloruro de polividieno	15.5 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Cloruro de polivinilideno	8.26 cm ³ .m ² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Schlimme y Rooney, 1997.
Cloruro de polivinilo	0.19 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 620-2248 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm 620-2248 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Schlimme y Rooney, 1997. Yahia, 1992.
Copolimero acetato de vinilo	8000-13000 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm	Schlimme y Rooney, 1997.
Etilcelulosa	31000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Fluoruro de polivinilo	50 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Goma hidrocolada	130-1300 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm	Schlimme y Rooney, 1997.
Laminado de poliamina	40-50 mL.m ² .día ⁻¹ a 23° C	Giménez <i>et al.</i> , 2002.
Lonómero	3500-7500 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm	Schlimme y Rooney, 1997.
Metil celulosa	1240 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Nylon-6	15.5 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Policarbonato	13950-14725 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Poliéster	52.0-130.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Poliestireno	2000-7700 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm 2600-7700 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Schlimme y Rooney, 1997. Yahia, 1992.
Polietileno de alta densidad	520-400 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm	Schlimme y Rooney, 1997.
Polietileno de baja densidad	27 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 40-50 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ a 23° C 3900-13000 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm 8900-13000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Giménez <i>et al.</i> , 2002. Schlimme y Rooney, 1997. Yahia, 1992.
Polietileno de media densidad	2600-8293 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm	Schlimme y Rooney, 1997.
Polipropileno	9.0 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 1300-6400 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con Δp= 1atm 1300-6400 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Schlimme y Rooney, 1997. Yahia, 1992.

Cuadro 6. Permeabilidad de distintos materiales a dióxido de carbono.

Material	Permeabilidad	Referencia
Acetato de celulosa	348 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 13300-15500 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Yahia, 1992.
Cloruro de polividieno	59.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Cloruro de polivinilideno	59 cm ³ .m ² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Schlimme y Rooney, 1997
Cloruro de polivinilo	0.65 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 4263-8138 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$ 4263-8138 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Schlimme y Rooney, 1997 Yahia, 1992.
Copolimero acetato de vinilo	35- 53000cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Schlimme y Rooney, 1997
Etilcelulosa	77500 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Fluoruro de polivinilo	171.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Goma hidrocolada	520-5200 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Schlimme y Rooney, 1997
Laminado de poliamina	40-50 mL.m ⁻² .día ⁻¹ a 23° C	Schlimme y Rooney, 1997
Lonómero	9700-17800 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Yahia, 1992.
Metil celulosa	62000 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Nylon-6	31.0 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Policarbonato	3250-26350 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Poliéster	180-390 mL.mm.m ⁻² .día ⁻¹ .atm ⁻¹	Yahia, 1992.
Poliestireno	10000-26000cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Schlimme y Rooney, 1997
Polietileno de alta densidad	3900-10000cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Schlimme y Rooney, 1997
Polietileno de baja densidad	99 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 7700-77000 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Schlimme y Rooney, 1997
Polietileno de media densidad	7700-38750cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Schlimme y Rooney, 1997
Polipropileno	58 mol.m.s ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹ 7700-21000 cm ³ .m ² .día ⁻¹ con $\Delta p = 1 \text{ atm}$	Cameron <i>et al.</i> , 1995. Schlimme y Rooney, 1997

2.13 Ventajas y riesgos del uso de películas plásticas.

En los productos hortofrutícolas frescos se llevan a cabo varios cambios, tales como cambios de color, cambios de sabor (azúcares, ácidos, fenoles, compuestos volátiles aromáticos), textura, cambios gaseosos (en O₂, CO₂, etileno y vapor de agua) y cambios nutricionales. Es por ello que mediante el

empleo de las atmósferas controladas y modificadas se busca, no detener por tratarse de productos frescos, pero si disminuir al mínimo posible estos cambios (Yahia, 1993).

Según Yahia (1993), las películas plásticas presentan varias ventajas entre las que se incluyen:

- 1) La disminución de la velocidad respiratoria.
- 2) La baja concentración de O_2 en las AM disminuye la síntesis y acción de etileno, y alta concentración de CO_2 reduce la sensibilidad del producto al etileno.
- 3) Disminuye las pérdidas de vitaminas.
- 4) Las bajas concentraciones de O_2 y las altas concentraciones de CO_2 presentan efectos fungistáticos.
- 5) Funcionan como controladores de insectos y hortalizas.
- 6) Controlan la maduración y senescencia en tejidos vegetales debido a la disminución del metabolismo respiratorio y la síntesis y acción del etileno.
- 7) Mantenimiento de la calidad y de la vida de anaquel. Los beneficios antes mencionados se traducen en una reducción en la pérdida cuantitativa y cualitativa de los productos hortofrutícolas y un aumento en su vida de anaquel.

No obstante todos los beneficios antes mencionados con el uso de películas plásticas, si estas no se emplean en forma adecuada trae como resultado varios problemas y puede causar la pérdida total del producto tales como:

- 1) Concentraciones muy bajas de O_2 y/o muy altas de CO_2 produce un cambio de respiración de aeróbica a anaeróbica.
- 2) El almacenamiento de frutas en AC y AM por tiempos prolongados disminuye su capacidad para desarrollar su sabor y aroma característico, debido a que niveles muy bajos de O_2 y/o muy altos de CO_2 estimulan el desarrollo de sabores y olores desagradables en los alimentos por el proceso de fermentación.
- 3) Las AM pueden estimular distintos desordenes fisiológicos tales como: desintegración interna del producto (alto CO_2), estimulación de la germinación en productos como papa. Tomar el color café en el interior de varios productos vegetales.
- 4) Aumentó en la sensibilidad de hongos.
- 5) Maduración anormal en frutos y hortalizas.

Ben-Yehoshua *et al* (1983) menciona que las películas pueden actuar también como una barrera física para disminuir la disipación de fungicidas volátiles, aumentando con esto la efectividad del fungicida.

Millar y Risse (1983) lograron resultados muy favorables en pimientos, brócoli, mango, melón, toronja, limón y naranja. El envasado redujo la pérdida de agua

y retardo en ablandamiento, manteniendo las características de frescura de los productos durante largos periodos de almacenamiento y comercialización.

2.13.1 Empacado en atmósfera modificada.

Uno de los principales efectos de la atmósfera modificada sobre el metabolismo de frutas y hortalizas es el descenso de la tasa respiratoria con una disminución en el consumo de sustrato, producción de CO_2 , consumo de O_2 y desprendimiento de calor, como resultado se frena el metabolismo e incrementa la vida de conservación (Romojaro *et al.*, 1996).

El concepto básico de envasado de alimentos frescos en atmósferas modificadas es la sustitución del aire que rodea al alimento, con una mezcla de gases con una proporción diferente a la del aire (Parry, 1995).

El uso de empaques con atmósferas modificadas (MAP) en la preservación poscosecha es una técnica importante para reducir y mantener la calidad a través del sistema de distribución. MAP, es una modificación en la atmósfera que interviene entre el proceso natural de productos de respiración e intercambio de CO_2 a través del empaque (Fonseca *et al.*, 2000).

Debido a la respiración, hay una acumulación del dióxido de carbono (CO_2) y de un agotamiento del oxígeno (O_2) que es regulado por el intercambio del gas a través del paquete para, en el equilibrio, entonces alcanzar los O_2 adecuados y las concentraciones del CO_2 (Fonseca *et al.*, 2000).

Los bajos niveles del O_2 y los altos niveles del CO_2 en MAP pueden reducir potencialmente la tasa de respiración, la sensibilidad y la producción de etileno, como resultado se puede ampliar la vida de almacenaje del producto fresco (Fonseca *et al*, 2000).

Fonseca *et al* (2000), mencionan que aunque películas plásticas flexibles son ampliamente utilizadas en MAP, estos materiales tienen algunas limitaciones debido a sus características de la estructura y de la impregnación como los que a continuación se mencionan:

- Las películas no son bastante fuertes para los paquetes grandes las características de la permeabilidad de la película cambian imprevisible cuando se estiran o se pinchan las películas.
- Algunas películas son barreras relativamente buenas al vapor de agua, causando la condensación dentro de los paquetes cuando ocurren las fluctuaciones de la temperatura hay susceptibilidad al crecimiento microbiano.
- La permeabilidad de la película puede ser afectada por la condensación del agua. la uniformidad de las características de la impregnación de películas no es todavía satisfactoria.
- La permeabilidad de la película es baja para los productos de respiración altos, y los productos que requieren altas concentraciones de CO_2/O_2 se pueden exponer a la anaerobiosis.

Las limitaciones de las películas plásticas, esta desarrollando amplio interés en MAP para (i) los paquetes a granel, (ii) los productos de respiración altos, y/o (iii) frescos cortados; por lo cual está conduciendo al desarrollo de los nuevos materiales y sistemas (Fonseca *et al*, 2000).

Entre las películas comúnmente empleadas, para el envasado en atmósferas modificadas se incluyen: cloruro de polivinilo, polipropileno, poliestireno y polietileno que son utilizadas para proporcionar el medio sellado, en los que sus propiedades de barrera dependen del espesor (Greengras, 1995)

El polietileno es la película polimérica mas usada para el empaque de productos, ya que ofrece las ventajas de ser inerte, permeable al O_2 y CO_2 , etileno y comparativa baja permeabilidad al vapor de agua (Nur *et al*, 2003). La vida útil alcanzable por un producto empaquetado en atmósfera modificada es inversamente proporcional a la intensidad de respiración (Greengras, 1995). Es importante que las películas plásticas utilizadas en el empaque en atmósferas modificadas de productos frescos y de productos mínimamente procesados tengan una relación de permeabilidad de CO_2 a O_2 relativamente alta. De esta forma se permitirá una disminución de la concentración de CO_2 dentro del envase (Kader, 2002).

El empaque de productos mínimamente procesados son películas poliméricas permeables y contenedores semirígidos en donde se requieren concentraciones reducidas de O_2 y elevadas de CO_2 en la atmósfera del empaque,

disminuyendo los cambios degradativos de la calidad e incrementa la vida de anaquel del producto (López, 2001)

Viña y colaboradores (2004), evaluaron diferentes temperaturas (0, 4 y 10°C) y tiempo de muestreo para determinar la capacidad antioxidante de apios cortados, los cuales se empacaron en bandejas de poliestireno y se sellaron con películas de PVC. Las muestras se tomaron a 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento para determinar fenoles totales, ácido clorogénico y ácido ascórbico. El poder antioxidante presentó comportamiento similar para las tres temperaturas probadas, decreciendo después de 7 días, luego hubo un incremento al día 14. Este incremento coincide con el incremento de ácido ascórbico, el cual fue aumentando al incrementarse la temperatura.

2.14.2 Metabolismo anaeróbico.

El desarrollo de un sistema de atmósfera modificada depende fuertemente de la capacidad de intercambio gaseoso de la película que se use como empaque. De acuerdo con Koros y Chern (1987), el fenómeno del flujo selectivo de gases a través de membranas poliméricas fue descrito desde el siglo XIX como un proceso de permeación, que involucra un mecanismo de solución-difusión, donde el gas se disuelve primero en el polímero y luego fluye a través de él, de manera semejante a la difusión en líquidos.

A la capacidad de una película para transportar un gas de uno de sus lados al otro, se ha denominado permeabilidad, expresada por el producto del coeficiente de solubilidad y el coeficiente de difusividad del gas penetrante en el polímero (Stern *et al*, 1963).

Las películas son mas permeables al CO_2 que al O_2 de tal modo que la tasa de acumulación de CO_2 procedente de la respiración es menor que la tasa de agotamiento correspondiente (Pantastico, 1979) y generalmente en una AM a pesar de tener un incremento de CO_2 y una disminución de O_2 no se ejerce un estricto control en los niveles de estos gases, pudiendo ser modificada intencionalmente o no, la composición de la atmósfera (Wills *et al*, 1998).

En una bolsa impermeable, el O_2 se consume con rapidez mientras que todavía se produce CO_2 . El volumen de gases aumenta y el paquete se hincha. Con frecuencia, en paquetes impermeables conservados a temperatura ambiente se encuentran concentraciones dañinas de CO_2 de 20% o mayores. Algunas películas, cuando se prueban a temperaturas bajas, parecen tener las características de permeabilidad deseadas para el producto (Pantastico, 1979).

Al disminuir las concentraciones de oxígeno por debajo del punto crítico se manifiesta la respiración anaeróbica (efecto Pasteur), con lo cual se desvía el metabolismo hacia la producción de acetaldehído y etanol, desarrollándose aromas indeseables, lo cual implica células muertas o dañadas, oxidación de fenoles y oscurecimiento de tejidos. Además de altas concentraciones de CO_2

activan las enzimas málicas que son responsables de la degradación del ácido málico hasta CO_2 , etanol y ácido láctico (Corrales *et al*, 1991).

2.14.3 Consideraciones Bioquímicas.

Ya se ha mencionado que la reducción en la disponibilidad de O_2 causa un abatimiento de la velocidad del proceso respiratorio. En ausencia de O_2 el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) y la cadena de transporte de electrones no pueden funcionar. La glicólisis no puede continuar operando por que la provisión celular de NAD^+ es limitada y una vez que todo el NAD^+ queda reducido a NADH, la reacción catalizada por la enzima gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa no puede tomar lugar. Para sobrellevar este problema, las plantas y otros organismos pueden metabolizar piruvato para realizar una o más formas del metabolismo fermentativo (Taiz y Zeiger, 1998).

Entre las muchas clases de fermentación de la glucosa, predomina dos tipos inicialmente relacionados (Lehninger, 1998): en la fermentación láctica, la molécula de glucosa se degrada y forma dos moléculas de ácido láctico de tres carbonos, como único producto final; este tipo de escisión de la glucosa se produce en muchos microorganismos, en las células de la mayor parte de los animales superiores y vegetales; en la fermentación alcohólica (común en plantas pero más ampliamente reconocida en levaduras) la enzima piruvato descarboxilasa actúa sobre el piruvato para formar dos moléculas de acetaldehído y dos de CO_2 por cada molécula de glucosa; a la postre, cada acetaldehído es reducido a etanol, por la intervención de la enzima alcohol

deshidrogenasa y NADH como sustrato. El papel fundamental de los procesos fermentativos es la oxidación del NADH para la producción de NAD^+ y permitir la formación de ATP (Tai y Zaiger, 1998).

Mientras que los procesos fermentativos producen solo dos moléculas de ATP por molécula de glucosa fermentada, el metabolismo anaeróbico produce 32. por lo tanto, la provisión de los requerimientos energéticos por vía exclusiva de la fermentación requiere 16 veces mas glucosa que la provisión por medios anaeróbicos (Lehninger, 1998)

Cabe mencionar que elevadas concentraciones de CO_2 y/o bajas de O_2 , ejercen efectos fungicidas, esto significa que se pueden usar humedades relativas mayores en los cuartos de almacenamiento sin peligro de pudriciones y con todo esto reducir las pérdidas fisiológicas de peso y los problemas de marchitamiento de los productos (Corrales *et al.*, 1990).

El uso de atmósferas controladas o modificadas también implica riesgos, pues al pasar ligeramente los límites de tolerancia, se puede provocar un aumentó de la susceptibilidad a ciertas fisopatías, dependiendo del tipo de producto y de las temperaturas y de las condiciones de almacén. Otros problemas que se pueden acentuar son la maduraron irregular, el desarrollo de sabores y aromas desagradables y hasta aumentar la susceptibilidad al ataque de microorganismos (Corrales *et al.*, 1990).

Al bajar la concentración de oxígeno por debajo del punto crítico se manifiesta la respiración anaeróbica (efecto Pasteur), con lo cual se desvía el metabolismo

hacia la producción de acetaldehído y etanol, desarrollándose aromas que son las responsables de la degradación del ácido málico hasta CO_2 , etanol y ácido láctico (Corrales *et al.*, 1990).

2.14.4 Efecto pasteur.

La disminución gradual de la concentración de oxígeno circundante al producto llega a inducir la respiración anaeróbica cuando los niveles de este gas son críticos, este cambio de metabolismo por efecto de la disminución en la disponibilidad de oxígeno se conoce como efecto Pasteur. La mayor frecuencia de la fermentación, ha permitido considerar al punto de compensación anaeróbica como un adecuado indicador de la transición del metabolismo aeróbico al anaeróbico, después de una reducción paulatina de la concentración de O_2 en el ambiente circundante o interno del producto (Boersing *et al.*, 1988). Según Davis (1980), en condiciones de anaerobiosis los niveles de NADH se incrementan y los niveles de NAD disminuyen; por lo tanto se sabe que la piruvato descarboxilasa (PDC), se activa en presencia de NADH y se inhibe en presencia de NAD, entonces ambos cambios favorecen la actividad de la PDC.

Entre los cambios metabólicos asociados con atmósferas con muy alto CO_2 y/o muy bajos O_2 se incluye el incremento nocivo de la acidez, acumulación de productos de la fermentación como etanol y acetaldehído y activación de ciertos compuestos (Yahia *et al.*, 1991).

El incremento del consumo de glucosa para suplir adecuadamente los requerimientos energéticos, ocasiona una sobre producción de CO_2 en un proceso de fermentación alcohólica (Boersing *et al.*, 1988). La reducción de la concentración de O_2 afecta la producción de etileno. De acuerdo con Burg (1967) cuando la presión parcial de O_2 se reduce a aproximadamente 2.8 KPa, la respuesta al etileno es reducida en un 50%. Yang y Hoffman (1984) determinaron que la producción de este gas a partir del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) es una reacción catalizada fuertemente dependiente de oxígeno que se inhibe en bajas concentraciones del mismo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Material vegetal.

Para la realización del presente estudio se utilizaron semillas de alfalfa (var CUF- 101). Las semillas se germinaron durante tres días bajo condiciones controladas de temperatura (28 °C) y humedad relativa de 90-95 %. Se utilizó una solución de hipoclorito de calcio ($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) para el riego.

3.2. Diseño de tratamientos y experimentos.

Los factores de estudio en el experimento fueron dos tipos de empaques y las temperaturas empleadas (1, 5 y 25 °C). Los germinados se empacaron en charolas de poliestireno termoformado cubiertos con una película plástica comercial de Polietileno de Baja Densidad Sun Wrap® y el empaque rígido (PET). Las evaluaciones fueron al día 1, 2, 3, 4, 6, 10 y 14 después de establecido el experimento. La característica de permeabilidad de la película plástica fue: al O_2 de $27 \text{ mol} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$; al CO_2 de $99 \text{ mol} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$; y al vapor de agua de $868 \text{ mol} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$. La unidad experimental fueron 100 g de germinados empacados a las diferentes condiciones.

La humedad relativa en las cámaras de refrigeración fue de 90-95 %, ya que son las recomendadas por algunos autores para alargar vida de anaquel.

3.4. Variables Respuesta Evaluadas

3.4.1. Etanol y Acetaldehído

La cuantificación de etanol y acetaldehído se determinó para cada una de las unidades experimentales por cromatografía de gases, mediante la técnica de espacio cabeza propuesta por Davis y Chase (1969).

Para esto se prepararan viales con 10 mL de capacidad a los que se le colocaran 5 g de muestra, se taparon y sellaron; estas muestras se congelaron. Para realizar la determinación se descongelaron las muestras a temperatura ambiente; una vez descongeladas se incubaron en baño maría a 30 °C por 15 min. Enseguida se agitaron 5 segundos en un vortex y se tomó 1 mL del espacio libre del vial para inyectarse en un cromatógrafo de gases Varian Star 3400. Las condiciones de operación del cromatógrafo para la determinación de ambos volátiles fueron: Columna Propak N, nitrógeno como gas de acarreo, 160 °C de temperatura en el inyector, 170 °C en la columna y 170 °C, en el detectór, de iniciación de flama (FID). El tiempo de corrida fue de 7 minutos bajos las condiciones cromatográficas establecidas. Con un tiempo de retención de 3.51 para acetaldehído y 4.4 para etanol. La cuantificación de etanol y acetaldehído se determino con estándares de etanol y acetaldehído.

3.4.2. Clorofilas y Carotenoides.

Se determinó el contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total siguiendo la metodología de la AOAC (1998). Se pesarán 25 g de tejido vegetal fresco, posteriormente se colocó el tejido en tubos de vidrio donde se le agregó primeramente 5 mL de acetona fría al 80 % v/v y se trituro la muestra en un homogenizador de tejidos. Después se le agregaron nuevamente otros 5 mL de acetona para su posterior homogenización. A continuación se filtro la muestra en papel filtro Whatman® 1. Una vez clarificadas las muestras se les determinó la absorbancia a 645 (clorofila *a*), 663 (clorofila *b*) y 470 nm (carotenoides totales) en un espectrofotómetro (Unico®), donde como blanco fue la acetona 80 %. Todo esto se realizó en oscuridad. El contenido de clorofila que se encuentra en el extracto se calculo de acuerdo con los siguientes modelos matemáticos propuestos por Lichtenthaler (1987).

$$\text{mg clorofila } a/\text{g de peso fresco} = [12.25 (A_{663}) - 2.79 (A_{645})] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{mg clorofila } b/\text{g de peso fresco} = [21.5 (A_{645}) - 5.1 (A_{663})] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{mg clorofila total/g de peso fresco} = [7.15 (A_{663}) + 18.71 (A_{645})] \times V/(1000 \times W)$$

Donde:

A = Lectura de absorbancia

V = Volumen final del extracto clorofila – acetona 80%

W = Peso fresco en g del tejido

La cantidad de carotenoides totales presentes en el extracto se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación:

mg g^{-1} de carotenoides totales de peso fresco = $(1000 \times A_{470}) - (1.82 \times \text{CC a}) - (85.02 \times \text{CC b})/198$

Donde:

A = Lectura de absorbancia

CC a = Contenido de clorofila a

CC b = Contenido de clorofila b

3.4.4. Pérdida de peso

Esta determinación se realizó midiendo cambios de peso en 4 charolas por tratamiento y por día de evaluación durante el almacenamiento usando una balanza digital (ADAM ACD PLUS-1000). Los datos se expresaron como porcentaje de pérdidas en relación al peso inicial de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% PP = \frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso final})}{(\text{Peso inicial})} \times 100$$

3.4.5 Medición de respiración y etileno.

La medición de la velocidad de respiración y la producción de etileno se obtuvieron por el método estático, las mediciones se realizaron en los empaques, para cada tratamiento, se tomó 5 mL de la atmósfera del espacio cabeza los cuales se guardaron en tubos de vidrio marca Vacutainer®, posteriormente se inyectó en un cromatógrafo de gases Varian Star 3400. La temperatura del horno fue de 80 °C, y la del detector de 170 °C; así mismo se utilizó una columna capilar Chromopack tipo abierta y un detector de

conductividad térmica (FCD) para CO₂ y de ionización de flama para etileno (FID) a 250 °C. El equipo se calibró con un factor de etileno (INFRA) 10 ppm y CO₂ (INFRA) 500 ppm. Los gases utilizados y sus flujos en el detector (FID) fueron aire (439 mL.min⁻¹); He (32.2 mL.min⁻¹); H₂ (mL.min⁻¹); con 14.5 psi de presión en cabeza, con un tiempo de corrida de 5 minutos. Los resultados se expresarán mediante las siguientes fórmulas:

$$mL\ CO_2.Kg.h^{-1} = \frac{CO_2\ (\%).\ volumen\ de\ espacio\ vacio\ (mL)}{Peso\ muestra\ (g^{-1}) . tiempo\ (h^{-1})}$$

$$nL\ C_2H_4.g^{-1}.h^{-1} = \frac{Concentración\ (nL / mL) . Volumen\ espacio\ vacio\ (mL)}{Peso\ muestra\ (g^{-1}) . tiempo\ (h^{-1})}$$

3.5 Escala hedónica

Se evaluó la calidad de los germinados de alfalfa mediante una escala hedónica propuesta por DeEll *et al.* (2000), durante 1, 2, 3, 4, 8, 10 y 14 días después del almacenamiento. Se evaluó la frescura, el color del cotiledón y el hipocótilo. La frescura fue evaluada usando una escala de uno a cinco, mientras que el color de los cotiledones y el hipocótilo fueron evaluados usando una escala de uno a cuatro (Cuadro 7).

Cuadro 7. Escala hedónica usada para medir la frescura, color de cotiledón y color de hipocótilo durante el almacenamiento de germinados de alfalfa.

Valor	Calificación	Frescura
5	Excelente	Apariencia general excelente: hipocótilo blanco y crujiente; cotiledón verde-amarillo, ningún defecto.
4	Buena	Apariencia general buena: Algunas radículas muestran signos de oscurecimiento en las puntas, algunos cotiledones muestran signos de oscurecimiento, algunos defectos; crujencia de hipocótilo aceptable.
3	Aceptable	Apariencia en el mínimo aceptable: hipocótilo flácido, puntas de las radículas cafés y secas, algunos con vetas cafés, defectos severos.
2	Inaceptable	Sin frescura: hipocótilo con vetas cafés y oscuras: cotiledones cafés u oscuros.
1	Pobre	Olor a humedad, hipocótilo café, seco o viscoso, cotiledones oscuros.
Color del cotiledón		
4	Excelente	La mayoría de un verde claro
3	Bueno	Algunos inician a oscurecer
2	Inaceptable	Algunos cafés u oscuros
1	Pobre	La mayoría oscuros
Color del hipocótilo		
4	Excelente	La mayoría blanco
3	Bueno	Algunas puntas desarrollan color café
2	Inaceptable	Muchos con vetas cafés
1	Pobre	La mayoría café

Fuente: Dell *et al.*, 2000.

3.6. Análisis de datos

Se utilizó un diseño en bloques incompletos con arreglo factorial, los factores de estudio fueron las diferentes temperaturas de conservación (1, 5 y 25 C) y los diferentes empaques, se consideraron los días de evaluación, se realizaron

4 repeticiones por tratamientos. Se utilizó el paquete estadístico SAS System for Windows Versión 9.0 Para establecer si existieron diferencias entre medias se realizó la prueba Tukey a una $P \leq 0.05$.

Para el caso de la evaluación sensorial se utilizó un panel de 5 personas, los miembros del panel fueron entrenados para reconocer y medir los atributos de calidad según la metodología de DeEll *et al.* (2000). Los datos de la evaluación sensorial fueron analizados por medio del paquete Sigma Plot versión 10, graficando las barras de error estándar para determinar diferencias.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Pérdida de peso.

El análisis de varianza determinó efecto significativo para la temperatura de almacenamiento y el empaque utilizado en la pérdida de peso. Así, se observó mayor pérdida de peso al incrementar la temperatura de almacenamiento (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la pérdida de peso en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	1.15 b ^z	1.87 c	3.31 c	5.90 a	0.41 a	0.50 b	0.82 b
	5	1.68 b	3.12 b	4.68 b	5.22 a	0.53 a	1.34 a	2.05 a
	25	4.64 a	9.32 a	14.49 a	13.31 b			
Empaque	Pliofilm®	1.33 b	2.25 b	3.86 b	5.45 a	0.55 a	1.28 a	1.95 a
	Clamshell®	0.16 c	0.29 c	0.40 c	0.48 b	0.40 a	0.56 b	0.92 b
	Testigo	5.99 a	11.77 a	18.23 a				
DMS ^y	DMS ^y	0.91	0.97	1.33	1.63	0.25	0.45	0.35

^z Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

El almacenamiento a 25 °C provocó una pérdida de peso entre 3 y 4 veces más que cuando el producto se almacena a 1 ó 5 °C. Para el tercer día del almacenamiento las pérdidas de peso fueron de 4.68 % a 5°C y 3.31 % a 1°C. En todas las temperaturas la pérdida de peso fue en aumento conforme con el tiempo durante el periodo de almacenamiento, el mayor porcentaje de pérdida de peso registrado fue de 14.49 % a 25 °C, ya que estas fueron las condiciones ambientales. Al término del experimento se detectaron diferencias significativas entre las temperaturas de 1 y 5 °C, observándose una mayor pérdida de peso a 5 °C.

El tipo de empaque influyó significativamente en las pérdidas de peso las mayores pérdidas se observaron bajo las condiciones ambientales y sin empaque, para el día tres después del almacenamiento las pérdidas de peso con el uso de película plástica fueron de 3.48 % y de 0.40 % para el caso del empaque rígido, para este mismo día de evaluación las pérdidas de peso del producto sin empaque fueron de 18.23 %. A partir del día 4 y hasta el término del experimento se hubieron diferencias significativas entre los empaques, siendo mayores estas pérdidas con el uso del Pliofilm®. Se observó que la temperatura y las condiciones ambientales dentro de los empaques influyeron directamente en las pérdidas de peso.

Kader (2002) indica que la humedad relativa durante el almacenamiento prolongado es uno de los factores a considerar para evitar la pérdida de peso por transpiración, para germinados de alfalfa (*Medicago sativa*), frijol mungo (*Phaseolus vulgaris*) y rábanos (*Rhaphanus spp*) se recomiendan temperaturas

de 0 °C, con H.R. de entre 95-100 % en estas condiciones se logran una vida de almacenamiento de entre 5 y 9 días.

Para un almacenamiento temporal, se recomiendan temperaturas entre 0 y 2 °C y 90 a 95 % H.R. Para la comercialización se recomiendan temperaturas debajo de 5°C, ya que generalmente son las adecuadas para mantener la calidad. (Kader, 2002).

Cuadro 9. Interacción empaque y temperatura en la pérdida de peso en germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.

Factor	Nivel	días de almacenamiento						
Empaque	T °C	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	0.08 c ^z	0.14 d	0.18 d	0.25 b	0.51 a	0.75 b	1.15 b c
	5	0.45 c	0.72 d	0.91 d	0.58 b	0.59 a	1.81 a	2.75 a
	25	3.45 b	5.89 c	10.49 b c	15.51 a			
Clamshell®	1	0.11 c	0.39 d	0.35 d	0.32 b	0.33 a	0.24 b	0.48 c
	5	0.22 c	0.24 d	0.36d	0.37 b	0.47 a	0.88 b	1.36 b
	25	0.14 c	0.25 d	0.48 d	0.74 b			
Testigo	1	3.25 b	5.09 d	9.39 c	15.05 a			
	5	4.37 b	8.40 b	12.78 b	16.81 a			
	25	10.34 a	21.83 a	32.52 a				
DMS ^y		2.15	2.28	3.13	2.82	0.48	0.86	0.68

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Los tratamientos a temperaturas bajas junto con el uso empaque disminuyeron las pérdidas de peso (Cuadro 9). En los germinados empacados en Clamshell® a 1 °C las pérdidas de peso fueron de 0.48 %, las mayores pérdidas de peso se registraron con la película plástica a 5 °C (2.75%) después de 14 días de

empacado. A partir del día 10 en los tratamientos a bajas temperaturas (1 y 5 °C) se observaron desordenes fisiológicos como oscurecimiento en los cotiledones y el hipocótilo conforme aumentaba el periodo de almacenamiento, siendo de mayor intensidad en los tratamientos a 1 °C. Chan *et al.* (1998) encontraron una respuesta similar almacenando frutos de litchi a temperatura de 4 °C, por lo que se confirma que la mayoría de los productos con alto contenido de agua son susceptibles a daños por frío a temperaturas bajas.

Los resultados de pérdida de peso son similares a los reportados por DeEll *et al.* (2000), estos autores evaluaron el efecto del enfriado al vacío y la temperatura de almacenamiento en germinados de frijol mungo (*Phaseolus vulgaris*). Los germinados fueron puestos en bolsas Ziploc® microperforadas, las temperaturas de preenfriado al vacío fueron de 9, 6 y 3 °C, el tiempo de preenfriado fue de 6 min las temperaturas de almacenamiento fueron de 1, 3 y 6 °C, el periodo de almacenamiento fue de 7 días a 95 % de humedad relativa, para estas condiciones dadas, en todos los tratamientos no se apreciaron pérdidas de peso mayores al 5 % después del almacenamiento. Se observó que el enfriado al vacío favoreció la frescura después de 4 días de almacenamiento, pero no tuvo efectos significativos después de 7 días. La temperatura de almacenamiento influyó en oscurecimiento de los cotiledones, ya que este se incrementó conforme la temperatura disminuyó.

La vida útil del producto fue menor en los tratamientos sin empaque siendo esta afectada por la temperatura, ya que a los 4 días después del almacenamiento los tratamientos expuestos a 25 °C y con empaque registraron

pérdidas de 15.5 % con polietileno de baja densidad y 0.74 % con el empleo de empaques rígidos (Polietileno Tereftalato) las mayores pérdidas de peso se registraron a condiciones de a 25 °C y sin el uso de empaques (Cuadro 9). Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Lipton *et al.* (1981) donde se evaluó el almacenamiento de germinados de frijol mungo (*Phaseolus vulgaris*) a 0, 2.5, 5 y 10°C, los resultados obtenidos mostraron una vida útil de 8.5, 5.5, 4.5 y 2.5 días respectivamente.

4.2 Respiración.

La tasa de respiración es un indicador de la actividad metabólica de los vegetales y de esta depende el potencial de almacenamiento del producto, tasas altas de respiración indican actividad metabólica alta y por consiguiente una corta vida de almacenamiento (Rocculi *et al.* 2006).

Se detectó diferencia significativa para la temperatura de almacenamiento y el tipo de empaque utilizado en la tasa de respiración ($P \leq 0.05$), los germinados de alfalfa tuvieron una mayor tasa de respiración cuando se almacenaron a 25 °C, aquí la respiración disminuyó del primer al tercer día en 37.2 %; mientras que en los germinados almacenados a 1 y 5 °C la respiración disminuyó en el mismo periodo (Cuadro 10). Según Kader y Saltveit (2003), la respiración depende directamente de la temperatura, por ello se consideró natural la velocidad de la producción de CO₂ al disminuir la temperatura de almacenamiento.

Cuadro 10. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la tasa de respiración (mL•kg-1•h-1) de germinados de alfalfa durante el almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	48.36 c ^z	58.47 c	82.60 c	83.34 b	70.43 c	69.28 b	54.02 b
	5	54.06 b	107.18 b	138.54 b	118.69 b	133.67 a	108.14 a	89.51 a
	25	330.08 a	265.82 a	207.70 a	176.68 a			
Empaque	Pliofilm®	172.98 a	114.88 b	139.73 b	139.66 b	95.68 b	72.38 b	58.32 b
	Clamshell®	136.27 b	202.48 a	219.78 a	168.22 a	121.33 a	105.04 a	85.20 a
	Testigo	123.16 c	84.11 c	69.34 c				
DMS ^y		3.61	0.73	0.83	0.91	0.61	0.63	0.56

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

A partir del día 4 y hasta el termino del experimento se observó una disminución en la tasa de respiración del producto observándose diferencias significativas a temperaturas de 1 y 5 °C, este mismo comportamiento se observó con los diferentes empaques registrándose una mayor tasa de respiración en Clamshell® (Cuadro 10). En los germinados sin empaque la respiración fue menor que aquellos almacenados en la película plástica y en Clamshell®. La respiración disminuyó en los germinados mantenidos sin empaque y en empacados en la película plástica, mientras que en aquellos colocados en Clamshell® la respiración se incrementó (Cuadro 11). Durante el primer día de almacenamiento no se detectaron diferencias significativas en las tasas de respiración entre los empaques a 1 y 5 °C, sin embargo a partir del segundo día

y hasta el termino del experimento las mayores tasas de respiración se observaron a 5 °C y con el empleo del Clamshell® (Cuadro 11).

Cuadro 11. Interacción empaque y temperatura en tasa de respiración ($\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.

Factor		Días de almacenamiento						
Empaque	T (°C)	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	52.98 d ^z	68.50 g	98.21 g	86.63 f	81.31 d	63.60 d	50.30 d
	5	53.96 d	97.99 e	127.03 e	155.36 d	110.05 b	81.16 b	66.35 b
	25	301.87 b	268.16 b	193.95 c	176.99 b			
Clamshell®	1	54.41 d	71.76 f	117.80 f	95.74 e	85.37 c	74.96 c	57.73 c
	5	55.41 d	176.45 c	253.67 b	168.53 c	157.29 a	135.12 a	112.67 a
	25	409.34 a	359.23 a	287.86 a	240.39 a			
Testigo	1	37.69 e	35.14 i	31.80 h	28.92 h			
	5	53.00 d	47.11 h	34.92 i	32.18 g			
	25	278.80 c	170.08 d	141.30 d				
DMS ^y		8.49	1.72	1.96	1.23	1.18	1.22	1.08

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Se observó que a 25 °C y con el uso de empaques se registraron las mayores tasas de respiración, este comportamiento es similar al reportado por Ratti *et al.* (1996) donde se estudio el efecto de la temperatura (1, 6.5, 12 y 23 °C) en la tasa de respiración del producto y consumo de oxígeno en coliflor fresca almacenada en atmósferas controladas, los resultados mostraron tasas de respiración de 5, 12, 25 y 70 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ conforme aumentó la temperatura. Así mismo evaluaron la concentración de oxígeno, 40, 120, 200 y 280 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ los

resultados mostraron que para todas las condiciones estudiadas de O₂ a 1 °C, las tasas de respiración fueron menores a 15 mL·kg⁻¹·h⁻¹.

Saltveit (2004) menciona que la respiración poscosecha de los productos frescos depende de la temperatura del aire en el almacenamiento y de la composición de O₂, CO₂ y etileno, la disminución de la actividad enzimática por las condiciones de bajas temperaturas, bajos niveles de O₂ y un ligero aumento de CO₂, en general reduce el uso de sustratos (carbohidratos, ácidos orgánicos y otras reservas).

En todos los tratamientos se observó una aceleración en la tasa de respiración, a temperaturas de 1 y 5 °C este comportamiento se presentó a los 3 y 4 días después del almacenamiento y una disminución en los días posteriores conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, este comportamiento fue mayor a 5 °C y con el uso del Clamshell® (Cuadro 11).

La aceleración de la respiración después del enfriamiento se ha considerado como un índice de sensibilidad al frío (Wang, 1982). Resultados similares fueron obtenidos por Lee *et al.* (2001), al almacenar frutos de kiwi.

Los resultados obtenidos en cuanto al comportamiento de la tasa de respiración (aumentó-disminución) fueron similares a los reportados por Del Nobile *et al.* (2006) donde se estudio el efecto del uso de dos películas plásticas a base de poliolefinas en dos cultivares de lechugas ('Iceberg' y 'Romana') almacenadas a 5 °C. Los resultados mostraron un incremento gradual en la tasa de

respiración del producto en las primeras 100 horas después del empacado y un ligero descenso hasta finalizado el experimento, a la par de esto se observó una disminución gradual del oxígeno dentro de los empaques en las primeras 50 horas de establecido el experimento.

La temperatura ha sido considerada como uno de los factores externos que mas influyen en la respiración del producto, las reacciones biológicas generalmente se incrementan dos o tres veces más arriba de los 10 °C, generalmente rangos mayores se encuentran durante los sistemas de distribución y comercialización.

En los tratamientos a 25 °C la disminución de la tasa de respiración se presentó a partir día 2 después del almacenamiento, lo cual se puede atribuir a un agotamiento de oxígeno dentro de los empaques, o a que el producto entro en fase de senescencia (Cuadro 11). Burzo (1980) menciona que a altas temperaturas puede ocurrir una desnaturalización enzimática trayendo como consecuencia una disminución en la tasa de respiración, si la temperatura es baja pueden ocurrir daños fisiológicos e incrementar la tasa de respiración.

Estudios realizados por Rojas *et al.* (2007) en manzanas mínimas procesadas encontraron que bajo condiciones de atmósferas controladas se ha observado un rápido decremento en el nivel inicial de oxígeno, a este comportamiento se relaciona el aumento del contenido de CO₂ en la primeras semanas del procesado mínimo, a su vez este comportamiento se ve influenciado por el estado de madurez y la atmósfera de almacenamiento.

Los resultados en cuanto a tasa de respiración fueron similares a los obtenidos por Lipton *et al.* (1987), donde se reportaron tasas de respiración de 96 y 23 mL·kg⁻¹·h⁻¹ para frijol mungo a 10 y 0 °C respectivamente a condiciones de humedad de 95 % durante el almacenamiento.

A 25 °C se detectaron las mayores concentraciones de CO₂, referente a este comportamiento se ha reportado que aunque altos niveles de CO₂ en la atmósfera circundante al producto puede inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, sin embargo bajo estas condiciones se puede favorecer el desarrollo de sabores desagradables (Del Nobile *et al.*, 2006).

Se observó que la combinación de las características del producto y la permeabilidad dio como resultado una evolución en la atmósfera dentro del empaque (Cuadro11). Böttcher *et al.* (2003) mencionan que las concentraciones de equilibrio dependen del producto empacado, peso y temperatura de almacenamiento, se ha encontrado que bajos niveles de oxígeno y altos niveles de CO₂ junto con bajas temperaturas reducen la tasa de respiración del producto reduciendo las pérdidas de peso.

A temperatura de 25 °C hubo una mayor tasa de respiración y una menor vida útil en el producto ya que se desarrollaron olores desagradables en el producto (Cuadro 11). Makiro y Hirata (1997) mencionan que elevadas tasas de respiración se relacionan con una menor vida útil en el producto, en tal contexto se ha buscado reducir estas tasas de respiración, se ha reportado que el uso de quitosano puede reducir la respiración en productos almacenados en

atmósferas modificadas, este tipo de compuestos tiene excelentes propiedades mecánicas que dependen en gran medida del peso molecular y de su grado de cristalinidad. Se ha comprobado que el quitosano puede reducir las pérdidas de peso y mejorar las características poscosecha en germinados de frijol, sin embargo uno de los factores a considerar es la temperatura de almacenamiento (Young *et al.*, 2005)

4.3. Acetaldehído

El acetaldehído estuvo presente desde los primeros días del experimento con una tendencia a aumentar durante el almacenamiento, lo que indica presencia de metabolismo fermentativo (Cuadro12). Pesis (2005), indica que el acetaldehído es un componente natural del aroma en muchos productos el cual se acumula durante la maduración incluso bajo condiciones aeróbicas, este compuesto es formado en los frutos a partir de piruvato por la enzima piruvato descarboxilasa.

Cuadro 12. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de acetaldehído (mg de A.A / 100 g) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	0.33 b ^z	0.35 c	0.39 b	0.40 c	0.47 b	0.58 b	0.76 a
	5	0.33 b	0.37 b	0.41 b	0.47 b	0.51 a	0.62 a	0.77 a
	25	0.50 a	0.56 a	0.60 a	0.67 a			
Empaque	Pliofilm®	0.39 b	0.42 b	0.47 b	0.47 b	0.49 a	0.56 b	0.62 b
	Clamshell®	0.42 a	0.48 a	0.53 a	0.51 a	0.56 b	0.64 a	0.91 a
	Testigo	0.35 c	0.39 c	0.40 c				
DMS ^y		0.01	0.09	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

La temperatura influyó de manera directa en la producción de este compuesto ($P \leq 0.05$), así a 25 °C se produjo mayor cantidad de acetaldehído, durante los primeros 3 días de almacenamiento no se observaron diferencias significativas a temperaturas de 1 y 5 °C, sin embargo en días posteriores se observaron diferencias significativas en ambas temperaturas con una tendencia a aumentar, al final del almacenamiento no se observaron diferencias significativas entre ambas temperaturas (Cuadro 12).

Estudios realizados por Canché (2002) en tunas almacenadas a diferentes condiciones de frigoconservación, mostraron un comportamiento similar, los resultados obtenidos mostraron mayores niveles de producción de este metabolito conforme aumentó la temperatura y el periodo de almacenamiento, la explicación de este fenómeno se atribuye a la mayor actividad de la enzima

piruvato descarboxilasa a temperaturas elevadas y a la acumulación del metabolito en el tejido vegetal.

Se encontraron diferencias significativas entre los empaques desde el inicio y hasta el final del experimento, los mayores valores de este compuesto se presentaron con el uso del Clamshell® este comportamiento se pudo deber a una posible deficiencia de oxígeno y a una acumulación de CO₂ como resultado de una alta tasa de respiración bajo estas condiciones (Cuadro 12). Davis (1980) menciona que bajo condiciones de anaerobiosis (donde los niveles de O₂ son inferiores al PCA) por periodos prolongados muchos vegetales producen grandes cantidades de acetaldehído y etanol en detrimento de su calidad.

En el cuadro 13, se muestran las interacciones entre el empaque y las temperaturas en la producción de acetaldehído, se observó que durante el periodo de almacenamiento la producción de acetaldehído fue aumentando, los mayores valores se registraron a 25 °C, esto comparado con la temperaturas de 1 y 5 °C donde las tasas de producción fueron menores.

A temperatura de 25 °C y con el uso de empaques se presentaron los valores más altos de acetaldehído desde los primeros días de almacenamiento siendo estos mayores con el empleo del Clamshell®, la tenencia mostrada en los Cuadros 11 y 13 sugiere que con mayor concentración de CO₂ se tiene una mayor actividad fermentativa.

Cuadro 13. Interacción empaque y temperatura en la producción de acetaldehído (mg de A.A / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factores		Días de almacenamiento						
Empaque	T °C	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	0.33 d e ^z	0.37 d e	0.38 e f	0.42 d	0.48 b c	0.62 c	0.62 c
	5	0.34 d	0.38 d	0.48 c d	0.50 b	0.54 a	0.90 a	0.90 b
	25	0.50 b	0.52 b	0.58 b	0.63 a			
Clamshell®	1	0.33 d e	0.38 d	0.40 d e f	0.44 d	0.49 b	0.63 c	0.63 c
	5	0.35 d	0.37 d	0.40 c d e	0.41 d	0.46 c	0.87 b	0.92 a
	25	0.58 a	0.68 a	0.73 a	0.75 a			
Testigo	1	0.30 e	0.32 f	0.33 f	0.34 e			
	5	0.31 e	0.35 e	0.38 e f	0.43 d			
	25	0.43 c	0.49 c	0.50 b c				
DMS ^y		0.029	0.021	0.094	0.048	0.021	0.018	0.018

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: diferencia mínima significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Valle-Guadarrama *et al.* (2004) propusieron que al bajar la disponibilidad de oxígeno se reduce la actividad respiratoria afectando la actividad de las enzimas piruvato descarboxilasa y alcohol deshidrogenasa, responsables de la fermentación.

Al término del periodo de almacenamiento se detectaron diferencias estadísticamente significativas a temperaturas bajas los valores mas altos de este compuesto se presentaron a temperatura de 5 °C y con el uso del empaque rígido. El efecto de la temperatura en la producción de metabolitos ha sido reportado por algunos autores. Pesis *et al.* (2002) estudiaron el efecto de la temperatura en la producción de metabolitos en cerezas almacenadas en

empaques de polietileno y en un rango de temperaturas de 0 y 25 °C, los resultados mostraron un incremento en la producción de acetaldehído y etanol a altas temperaturas, así como un incremento en la tasa de respiración lo cual ocasiono una disminución en la vida útil del producto.

Las respuestas tempranas en la producción de acetaldehído fueron similares a las encontradas por Choi *et al.* (2001) en un cultivar de melón almacenado a 5 y 13 °C, ya que detectaron pequeñas cantidades de estos volátiles en los primeros días de almacenamiento.

Los tratamientos que presentaron los valores más altos de este metabolito fueron los mismos en los cuales se detectó las mayores tasas de respiración, lo cual se vio afectado por el empaque, esto sugiere que bajo estas condiciones se incrementó el metabolismo anaeróbico. Pesis *et al.* (2005) mencionan que el empacado en atmósferas modificadas a altas temperaturas trae como resultado incrementos en los niveles de etanol y acetaldehído. Yearsley *et al.* (1996) reportan que las óptimas condiciones en almacenamiento en atmósferas modificadas ocurre por arriba del límite de oxígeno al cual puede ocurrir la respiración anaeróbica, dando como resultado la producción de metabolitos anaeróbicos.

4.4 Etanol

La temperatura y empaque tuvieron efecto significativo en la producción de etanol, se encontrándose diferencias estadísticamente significativas a 25 °C, a esta temperatura se observó una producción de entre 2 y 3 veces mas que

cuando el producto se almaceno a 1 y 5 °C, a partir del día dos y hasta el término del almacenamiento se observaron diferencias significativas a 1 y 5 °C, presentándose una mayor producción a 5 °C (Cuadro 14). Este compuesto estuvo presente desde los primeros días del almacenamiento. Kimmerer y Kolowski (1982) establecieron y fundamentaron que para la producción de etanol por parte de los tejidos vegetales no se requiere forzosamente restricción en la disponibilidad de oxígeno, ya que la producción de etanol puede ocurrir como respuestas a diversas condiciones de estrés.

Cuadro 14. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de etanol (mg / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	0.47 b ^z	0.50 c	0.55 c	0.65 c	0.77 b	1.08 b	1.29 b
	5	0.47 b	0.54 b	0.59 b	0.68 b	0.80 a	1.17 a	1.35 a
	25	0.57 a	0.86 a	1.53 a	2.07 a			
Empaque	Pliofilm®	0.49 b	0.49 b	0.66 b	0.68 b	0.87 b	1.09 b	1.28 b
	Clamshell®	0.52 a	0.56 a	0.71 a	0.89 a	1.06 a	1.16 a	1.36 a
	Testigo	0.50 a b	0.54 c	0.73 c				
DMS ^y		0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

El uso de empaques incrementó la producción de etanol detectándose diferencias significativas, se observó una mayor producción de etanol con el uso del Clamshell® con tendencia aumentar durante el almacenamiento, este

comportamiento fue similar con el empleo de la película plástica, sin embargo en este empaque el incremento se presentó a partir del tercer día (Cuadro 14).

Analizando los Cuadros 13 y 15, podemos observar que se presentó un incremento mayor en la producción de etanol a comparación con las concentraciones de acetaldehído, bajo estas condiciones también se presentaron las mayores concentraciones de CO_2 , lo cual sugiere un agotamiento del oxígeno dentro de los empaques como resultado del proceso normal de respiración del producto. Los resultados son similares a los reportados por Hansen *et al.* (2001), en floretes de brócoli almacenados en atmósferas modificadas mostrando un incremento en la producción de etanol y acetaldehído conforme disminuyó la concentración de oxígeno o con 20 % de CO_2 , el brócoli fue tratado con 0.125 % de O_2 , 0.25 % de O_2 , 0.125 % de O_2 + 20 % CO_2 por 7 días, en general las concentraciones de etanol fueron 10 veces mas altas que las concentraciones de acetaldehído durante las condiciones de almacenamiento, sin embargo estos autores mencionan que este incremento depende el producto y de las concentraciones de CO_2 y O_2 en la atmósfera circundante del producto.

Cuadro 15. Interacción empaque y temperatura en la producción de etanol (mg / 100 g de peso fresco) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Días de almacenamiento						
Empaque	T °C	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	0.46 c ^z	0.48 g	0.50 e	0.61 e	0.71 c	1.03 c	1.26 b
	5	0.47 c	0.53 e	0.58 d	0.58 e	0.65 d	1.15 a b	1.30 b
	25	0.54 b	0.96 b	1.52 b	1.88 b			
Clamshell®	1	0.47 c	0.54 de	0.58 d	0.73 d	0.83 b	1.12 b	1.31 b
	5	0.49 c	0.57 d	0.62 d	0.82 c	0.94 a	1.20 a	1.40 a
	25	0.60 a	1.06 a	1.98 a	2.30 a			
Testigo	1	0.48 c	0.49 f g	0.55 d e	0.60 e			
	5	0.47 c	0.51 f g	0.56 d e	0.64 e			
	25	0.56 ab	0.62 c	1.08 c				
DMS ^y		0.05	0.03	0.06	0.06	0.04	0.06	0.06

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Mateos *et al.* (1993) reportaron incrementos mayores de etanol que en el contenido de acetaldehído en lechugas intactas y fresas almacenadas bajo condiciones extremas de oxígeno y CO₂.

En los tratamientos sin empaque a 1 y 5 °C no se observaron diferencias significativas en la producción de etanol durante el almacenamiento, bajo estas condiciones de almacenamiento se presentaron menores tasas de respiración lo cual confirma que este compuesto se incrementa bajo condiciones de anaerobiosis.

Para el día cuatro se detectó una mayor presencia de este metabolito a 25 °C y con el uso de empaques, la mayor concentración de este metabolito fue de 2.30 mg/ 100 gramos de peso fresco con el empleo del Clamshell®, observándose diferencias significativas a esta misma temperatura con el uso del Pliofilm®, este comportamiento se puede atribuir a que a estas condiciones se presentaron las mayores tasas de respiración en el producto lo cual pudo ocasionar un agotamiento en el oxígeno y una mayor producción de CO₂ en los empaques (Cuadro 15). Se ha reportado que la acumulación de etanol y acetaldehído se puede presentar en los productos a altas concentraciones de CO₂ lo cual ocasiona cambios en el pH de las células y a su vez esto trae como consecuencia incrementos en la síntesis de PCD Y ADH, lo cual puede afectar el metabolismo de los productos (Sisler *et al.*, 1988).

4.5. Etileno.

Los datos de la producción de etileno se muestran en el Cuadro 16, durante el periodo de almacenamiento se observaron diferencias significativas en las temperaturas evaluadas, las mayores tasas de producción de etileno se presentaron a 25 °C, en los primeros 3 días del almacenamiento se observó un aumento en la tasa de producción de etileno, sin embargo a partir del día 4 se registró una disminución. Se observaron diferencias significativas a temperaturas bajas, las menores tasas de producción de etileno durante el periodo de almacenamiento se presentaron a 1 °C.

Cuadro 16. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en la producción de etileno ($\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	0.04 c ^z	0.05 c	0.06 c	0.40 c	0.09 b	0.01 b	0.01 b
	5	0.38 b	0.38 b	0.47 b	0.45 b	0.43 a	0.29 a	0.19 a
	25	1.36 a	1.52 a	1.31 a	0.67 a			
Empaque	Pliofilm®	0.56 b	0.64 a	0.58 b	0.49 a	0.21 a	0.14 b	0.09 b
	Clamshell®	0.62 a	0.67 a	0.73 a	0.56 b	0.30 a	0.17 a	0.11 a
	Testigo	0.60 a b	0.67 a	0.54 c				
DMS ^y		0.04	0.05	0.03	0.18	0.12	0.02	0.003

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

El tipo de empaque influyó significativamente en la producción de etileno ($P \leq 0.05$), se presentó una mayor producción con el uso del Clamshell® con una tendencia a aumentar durante los primeros días de almacenamiento y una reducción gradual de tal actividad en días posteriores (Cuadro 16). Después de 2 días de almacenamiento no se detectaron diferencias significativas entre el testigo y el Pliofilm®.

El Cuadro 17, muestra el comportamiento de la producción de etileno durante el periodo de almacenamiento, se observó que después de 3 días a 1 y 5 °C ocurrió una disminución en la producción de etileno, esta disminución se relaciona con el aumento en la concentración de metabolitos anaeróbicos bajo estas mismas condiciones. Se ha comprobado que el acetaldehído y el etanol además de retardar la senescencia son capaces de inhibir la producción de

etileno en plantas (Heins, 1980). De igual manera se sabe que el etanol puede inhibir el desarrollo de color en algunos de tomate (Nelly y Saltveit, 1988). Pesis y Marinansky (1992) mencionan que el efecto del acetaldehído en la producción de etileno es más pronunciado que el etanol. La inhibición del etileno por el uso de acetaldehído se ha estudiado en uvas durante la poscosecha en se ha encontrado que el uso de etanol a las mismas concentración no produjo tal efecto.

Cuadro 17. Interacción empaque y temperatura en la producción de etileno ($\mu\text{L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) en germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factores		Día de almacenamiento						
Empaque	T °C	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	0.02 d	0.06 d	0.07 g	0.07 f	0.02 b	0.02 c	0.01 b
	5	0.37 c	0.43 c	0.48 c	0.37 d	0.41 a	0.27 b	0.17 a
	25	1.28 b	1.43 b	1.63 a	1.55 a			
Clamshell®	1	0.03 d	0.07 d	0.09 g	0.08 f	0.16 a	0.02 c	0.01 b
	5	0.40 c	0.35 c	0.67 d	0.53 c	0.45 a	0.32 a	0.20 a
	25	1.42 a	1.58 a	0.99 c	0.68 b			
Testigo	1	0.06 d	0.03 d	0.02 g	0.06 f			
	5	0.37 c	0.36 c	0.27 f	0.17 c			
	25	1.38 a b	1.53 a b	1.31 b				
DMS ^y		0.113	0.139	0.092	0.081	0.067	0.034	0.073

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Pesis (2005) reportó que la adición de acetaldehído a frutos de aguacate ocasiona una reducción de la producción de etileno por inhibición de la actividad de la ACC- oxidasa. El comportamiento en la producción de etileno es similar

encontrado por Forney *et al.* (1999) en germinados de col de bruselas ya que aparte de reportar un bajo rango de producción etileno ($< 25 \mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ a 7.5°C), menciona que este rango se puede incrementar durante el almacenamiento. La mayor tasa de producción de etileno se presentó a temperatura de 25°C y con el empleo del Clamshell[®], bajo estas condiciones después 2 días de almacenamiento se presentó una disminución en la tasa de producción de este compuesto, bajo estas condiciones se presentaron las mayores rangos de producción de etanol y acetaldehído por lo que este comportamiento puede ser atribuido al aumento en estos compuestos.

Según Kader (2002) la contaminación por etileno puede dar como resultado el amarillamiento de hortalizas de hoja (espinaca), de algunas hierbas frescas y de otras hortalizas verdes (brócoli). La senescencia de algunas flores es estimulada por el etileno a concentraciones muy bajas. En muchas plantas la exposición al etileno provoca el oscurecimiento o muerte de algunas porciones de hojas. Esta respuesta se ve frecuentemente en las plantas con follaje y es de consecuencias económicas importantes en la lechuga, en donde el etileno causa una fisiopatía conocida como manchado pardo. En la lechuga el pardeamiento resulta del colapso y muerte de algunas áreas de células, seguido por el incremento en la síntesis de compuestos fenólicos en respuesta al etileno (Kader, 2002).

Los efectos negativos del etileno antes mencionados se presentaron en algunos tratamientos, particularmente en aquellos donde se presentaron altas concentraciones de CO_2 y elevadas concentraciones de etileno, esto

concuerta con lo reportado por Lipton *et al* (1981), los cuales mencionan que algunos brotes son sensibles a daños por etileno. Aunque las tasas de producción de etileno son mínimas en todas las condiciones, se observó que la tendencia es aumentar conforme aumentó la temperatura, los resultados obtenidos son similares a los reportados por Lipton *et al.* (1981) donde estudiaron el efecto de la temperatura en la vida útil de germinados de frijol mungo (*Phaseolus vulgaris*), encontrando que las tasas de producción de etileno son mínimas y que éstas dependen de la temperatura, el germinado produjo 0.05, 0.24 y 0.90 $\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ a 0, 5 y 10 °C.

4.6. Clorofilas

En el análisis de varianza se observó significancia para la temperatura de almacenamiento y el empaque utilizado en la pérdida de clorofila durante el almacenamiento. Después del almacenamiento se observó mayor reducción de clorofila a temperatura de 25 °C y también a 1 °C, no detectándose diferencias significativas entre ambas temperaturas (Cuadro 18).

Comparando las temperaturas bajas (1 y 5 °C), se observó una mayor reducción de clorofilas a 1 °C durante el periodo de almacenamiento. Con el uso de empaques redujo la pérdida de este pigmento durante el almacenamiento, en comparación con el testigo.

Cuadro 18. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en el contenido de clorofilas (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	205.81 b	192.36 b	168.43 b	150.62 b	144.72 b	137.90 b	108.88 b
	5	206.59 a	195.21 a	182.23 a	171.04 a	167.38 a	160.29 a	143.01 a
	25	206.66 a ^z	185.66 c	160.92 c	115.54 c			
Empaque	Pliofilm®	206.33 ab	193.66 a	172.26 a	158.19 a	156.25 a	149.31 a	126.66 a
	Clamshell®	206.83 a	190.44 b	172.18 a	157.58 a	155.91 a	148.88 a	125.23 b
	Testigo	205.89 b	189.13 c	167.14 b				
DMS ^y		0.54	0.62	3.29	0.79	0.33	1.05	1.18

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: diferencia mínima significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

El Cuadro 19, muestra el comportamiento de las clorofilas en el periodo de almacenamiento, podemos observar que la tendencia en todos los tratamientos es a disminuir. A temperatura de 25 °C y sin el uso de empaques hubo una menor reducción del contenido de clorofilas, sin embargo en estas condiciones se presentaron las mayores pérdidas de peso por lo que el producto no fue comercializable, a esta misma temperatura con el uso de empaques hubo una mayor pérdida de clorofilas, esto se pudo atribuir a que bajo estas condiciones hubo una mayor tasa de respiración y un posible agotamiento del oxígeno induciendo la producción de metabolitos anaeróbicos. Para el día tres del almacenamiento a 1 °C se observaron pérdidas de este pigmento en un

18.0 %, en comparación con el valor inicial; aunque no se ha reportado que los germinados sean sensible a daños por frío, algunos autores mencionan que esto depende de la especie. De Ell *et al.* (2000), afirman que los daños por frío pueden ocasionar la pérdidas de clorofilas durante el almacenamiento.

Cuadro 19. Interacción empaque y temperatura en el contenido de clorofilas (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.

Factor		Días de almacenamiento							
Empaque	T ($^{\circ}\text{C}$)	1	2	3	4	6	10	14	
Pliofilm [®]	1	206.45 bc ^z	198.80 c	179.97 b	160.43 b	144.79 b	137.86 b	109.63 b	
	5	207.35 ab	201.75 b	180.76 a	180.76 a	171.59 a	160.76 a	143.69 a	
	25	205.19 cd	180.43 e	127.39 e	127.34 e				
Clamshell [®]	1	206.39 bc	199.00 c	180.56 b	160.31 b	144.65 b	137.94 b	108.13 b	
	5	207.23 ab	201.75 b	197.75 a	180.75 a	170.43 a	159.82 a	142.33 a	
	25	206.88 ab	170.39 f	138.22 d	126.68 e				
Testigo	1	204.60 d	179.29 e	144.71 cd	131.12 d				
	5	205.18 cd	181.92 d	152.21 c	140.62 c				
	25	207.90 a	206.18 a	204.43 a					
DMS ^y		1.27	1.47	7.74	1.91	1.54	2.03	2.28	

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Se observó que al término del periodo de almacenamiento hubo diferencias significativas entre las temperaturas, los valores mas bajos de clorofilas se observaron a 1 $^{\circ}\text{C}$, esto sugiere susceptibilidad a daños por frío. A 25 $^{\circ}\text{C}$ y con el uso de empaques se observó una mayor reducción en el contenido de clorofilas, bajo estas condiciones se presentaron las mayores tasas de

respiración lo cual sugiere que altos niveles de CO₂ produce cambios en estos pigmentos. Resultados similares fueron reportados por algunos Huyskens *et al.* (2006) donde se evaluó el empleo de atmósferas modificadas durante el almacenamiento de pepino, los resultados mostraron que altos niveles de CO₂ ocasionan una fuerte reducción en el contenido de clorofilas.

Esta sensibilidad de las clorofilas al CO₂ también ha sido encontrada en brócoli, lechugas y calabazas (Saltveit, 2003). Karacali (1993) menciona que el uso de atmósferas controladas y atmósferas modificadas en medios de bajos niveles de oxígeno y altos niveles de CO₂ además de reducir la actividad metabólica y otros procesos de desintegración, también pueden retardar las pérdidas de clorofilas, sin embargo la temperatura de almacenamiento es decisiva para lograr que se conserven niveles óptimos.

Para todos los días de evaluación en los tratamientos a temperaturas bajas y sin recubrimiento se observaron mayores pérdidas de este pigmento, bajo estas condiciones también se observaron las mayores pérdidas del color en los cotiledones. Akbudak *et al.* (2007), estudiaron el efecto de atmósferas controladas en vegetales (brócoli, espinacas y frijoles), los resultados mostraron que bajos niveles de oxígeno y altos niveles de CO₂ logran preservar los niveles de clorofilas, sin embargo las bajas temperaturas de almacenamiento pueden resultar perjudiciales.

4.7 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales responsables del color amarillo, naranja y rojo en muchos alimentos. El Cuadro 20, muestra el comportamiento de estos pigmentos durante el almacenamiento, al día 3 se observan diferencias significativas por la temperatura presentándose las mayores pérdidas a temperaturas de 25 y 1 °C, no detectándose diferencias significativas entre ambas temperaturas.

Cuadro 20. Efecto de diferentes temperaturas de conservación y diferentes empaques en el contenido de carotenoides (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa durante el periodo de almacenamiento.

Factor		Día de almacenamiento						
	Nivel	1	2	3	4	6	10	14
T (°C)	1	90.25 a ^z	80.90 a	68.27 b	60.21 b	56.98 b	49.11 b	44.57 b
	5	90.09 a	80.80 a	73.16 a	67.36 a	60.43 a	55.11 b	47.36 a
	25	89.86 a	80.90 a	68.41 b	54.78 c			
Empaque	Pliofilm®	90.35 a	78.80 b	68.06 c	61.37 a	57.08 b	52.50 a	47.15 a
	Clamshell®	89.98 a	79.29 b	69.27 b	61.53 a	60.33 a	51.73 b	44.78 b
	Testigo	89.78 a	80.96 a	72.52 a				
DMS ^y		0.860	0.670	0.699	0.14	0.536	0.609	1.34

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: Diferencia Mínima Significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Al termino del experimento se observó significancia a temperaturas bajas (1 y 5 °C), hubo una mayor disminución a 1 °C. En el factor empaque hubo diferencias significativas, se observa que el empleo de Clamshell® logró

conservar el contenido de carotenoides durante los primeros días del almacenamiento esto comparado con el Pliofilm®. En el Cuadro 21, se muestra la evolución del contenido de estos pigmentos durante el almacenamiento, se observa que al igual que con el contenido de clorofilas la tendencia es a disminuir durante el almacenamiento.

Cuadro 21. Interacción empaque y temperatura en contenido de carotenoides (μg / 100 g de peso fresco) de germinados de alfalfa a diferentes días de almacenamiento.

Factor		Días de almacenamiento						
Empaque	T (°C)	1	2	3	4	6	10	14
Pliofilm®	1	90.97 a ^z	81.12 c	70.40 d	60.86 c	55.36 c	50.35 b	45.45 bc
	5	90.60 a	81.27 c	72.97 c	66.23 b	58.80 b	54.65 a	48.90 a
	25	89.99 a	74.02 e	60.80 e	57.02 e			
Clamshell®	1	90.45 a	82.90 b	73.35 c	61.79 c	58.60 b	47.88 c	43.71 c
	5	89.81 a	83.33 b	75.80 b	68.92 a	62.06 a	55.58 a	47.11 ab
	25	89.68 a	77.80 d	58.67 f	53.87 e			
Testigo	1	89.81 a	78.63 d	61.07 e	57.98 d			
	5	89.60 a	77.80 d	70.72 d	66.93 b			
	25	89.92 a	86.50 a	85.77 a				
DMS ^y		2.02	1.57	1.64	1.78	1.01	1.33	1.11

^z: Letras iguales entre variables al interior de cada factor y día de muestreo no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$. ^y DMS: diferencia mínima significativa relativa a la comparación de medias de niveles al interior de cada factor.

Se observa que para el primer día de almacenamiento no se detectaron diferencias significativas, sin embargo a partir del día 2 se empezaron a

detectar pérdida en estos pigmentos, las mayores pérdidas se observan a bajas temperaturas y con el empleo del Pliofilm® y en el testigo a bajas temperaturas.

Al cuarto día de almacenamiento a 25 °C y con el uso del Pliofilm® y el Clamshell® no se detectaron diferencias significativas, se observa que bajo estas condiciones se aceleró la pérdida en el contenido de carotenoides, esto se puede deber a que en estas condiciones hubo un incremento en el contenido de etanol y acetaldehído. A partir del día 10 del almacenamiento no se detectaron diferencias significativas entre el Pliofilm® y el Clamshell® a 5 °C, para este mismo día de evaluación la mayor reducción en el contenido de carotenoides se presentó en el Clamshell® a 1 °C.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Azevedo *et al.* (2005) donde se evaluaron los cambios en el contenido de carotenoides durante el almacenamiento de espinacas mínimamente procesadas, a 7 y 9 °C por 5 días, en estas condiciones las mayores pérdidas se observaron a partir del día tres esto al pasar de un contenido inicial de 39.8 $\mu\text{g.g}^{-1}$ a 24.4 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Estos autores mencionan que las pérdidas en este pigmento pueden disminuirse optimizando el empaque con atmósferas modificadas y bajas temperaturas de almacenamiento.

4.8 Análisis de calidad

4.8.1 Frescura.

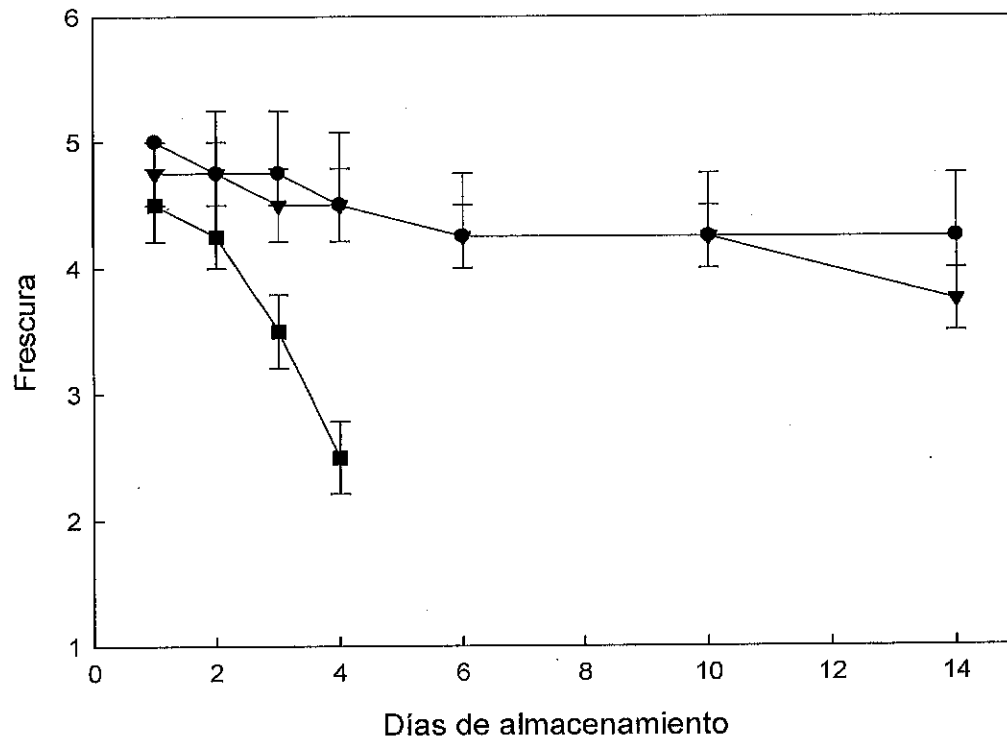


Figura 1. Efecto de temperatura y empaque en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C; (▼) Película plástica a 5 °C; (■) Película plástica a 25 °C.

La frescura ha sido considerada como un parámetro de calidad de gran importancia para muchos frutos y vegetales después de la cosecha, este parámetro se encuentra directamente relacionado con las pérdidas de agua en el producto. El almacenamiento a 1 °C logró mantener una calidad aceptable durante de 14 días, sin embargo a esta temperatura se observaron daños por frío en los germinados. Se ha reportado que productos almacenados a

temperaturas bajas registran pérdidas de peso. Sin embargo la exposición de estos productos a dichas condiciones ocasiona desordenes fisiológicos, principalmente daños por frío (Schirra, 1992).

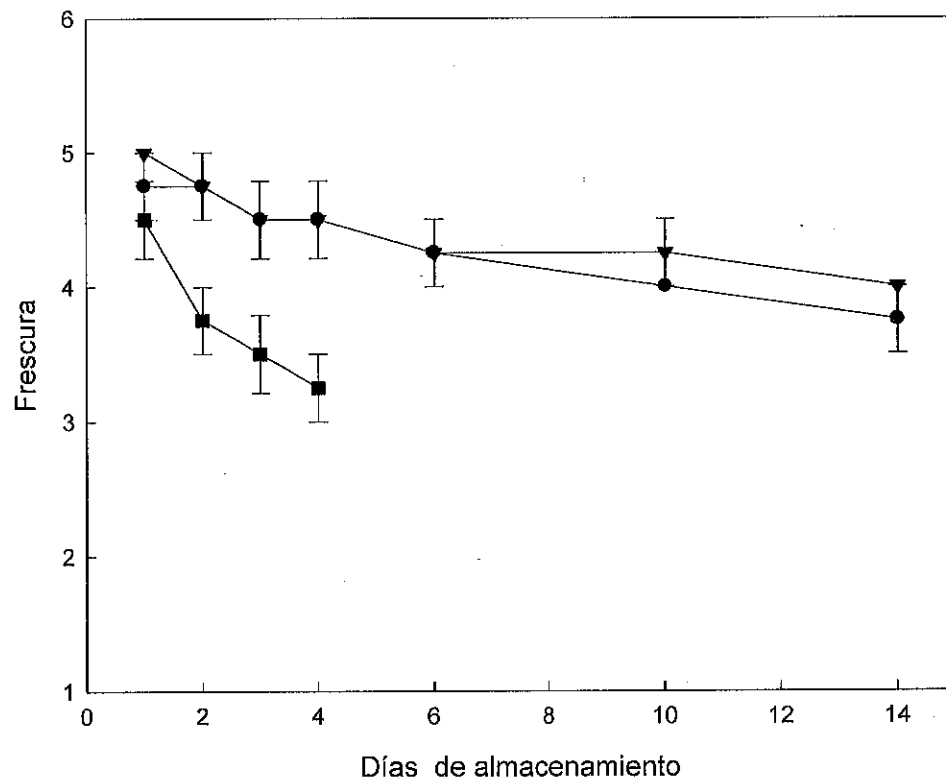


Figura 2. Efecto de la temperatura y empaque en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C; (▼) Clamshell® a 5 °C; (■) Clamshell® a 25 °C.

Thompson *et al.* (2002) menciona que la temperaturas bajas de conservación favorece a la creación de una micro atmósfera saturada alrededor de los productos que se desarrollaran diferencias de presión de vapor de agua entre el producto y su entorno logrando así conservar características aceptables en los productos. Podemos observar que bajo estas que en todas las temperaturas evaluadas se logró conservar la calidad del producto.

Los resultados de la evaluación de frescura sin el uso de empaques, indica que bajo todas las condiciones evaluadas, la vida útil del producto no fue mayor a tres días después del almacenamiento (Figura 3).

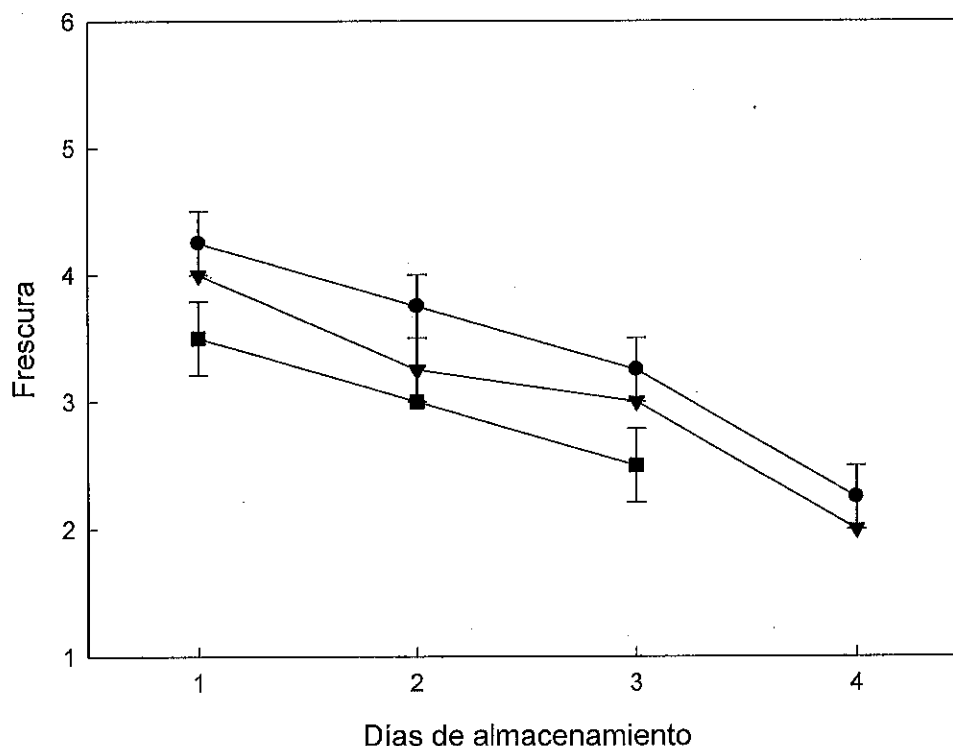


Figura 3. Efecto de la temperatura en la conservación de la frescura de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C; (▼) Testigo a 5 °C; (■) Testigo a 25 °C.

En el producto expuesto a 25 °C se percibió desarrollo de malos olores en parte por que bajo estas condiciones se detectaron las mayores concentraciones de etanol y acetaldehído y como resultado de una alta actividad metabólica.

A temperaturas de 1 y 5 °C, el producto se conservó en buenas condiciones después de 10 días de almacenamiento, analizando el Cuadro 8, bajo estas condiciones se dieron las menores pérdidas de peso en el producto. A 25 °C

se pierde la frescura del producto a dos días después del almacenamiento; en tanto que a temperaturas de 1 y 5 °C la vida útil del producto fue de tres días, con una mayor turgencia del producto a 1 °C.

Kader (2002) mencionó que los empaques tales como las películas plásticas ponen restricción a la salida de vapor de agua dependiendo de la permeabilidad al vapor que estas posean. Por otro lado Zagorí y Kader (1988) sugieren que las películas poliméricas se han utilizado con éxito, para reducir la pérdida de humedad de los productos durante su almacenamiento, transporte y exposición en los mercados; la reducción en pérdida de humedad se debe a que se disminuye la magnitud de la diferencia del vapor de agua entre el producto y su ambiente inmediato dentro del envase. Desde hace tiempo se han utilizado envases de películas poliméricas sin perforar con el objetivo de minimizar la pérdida de humedad y reducir la velocidad de respiración de los productos. Recientemente, aun las frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas han sido envasadas en películas poliméricas en un esfuerzo por mantener la calidad de los productos a la vez que se prolonga su vida útil.

4.8.2. Color del cotiledón

El color del cotiledón disminuye de un color verde claro y tiende a oscurecerse durante el almacenamiento, este comportamiento fue más acentuado a 25 °C (Figura 4).

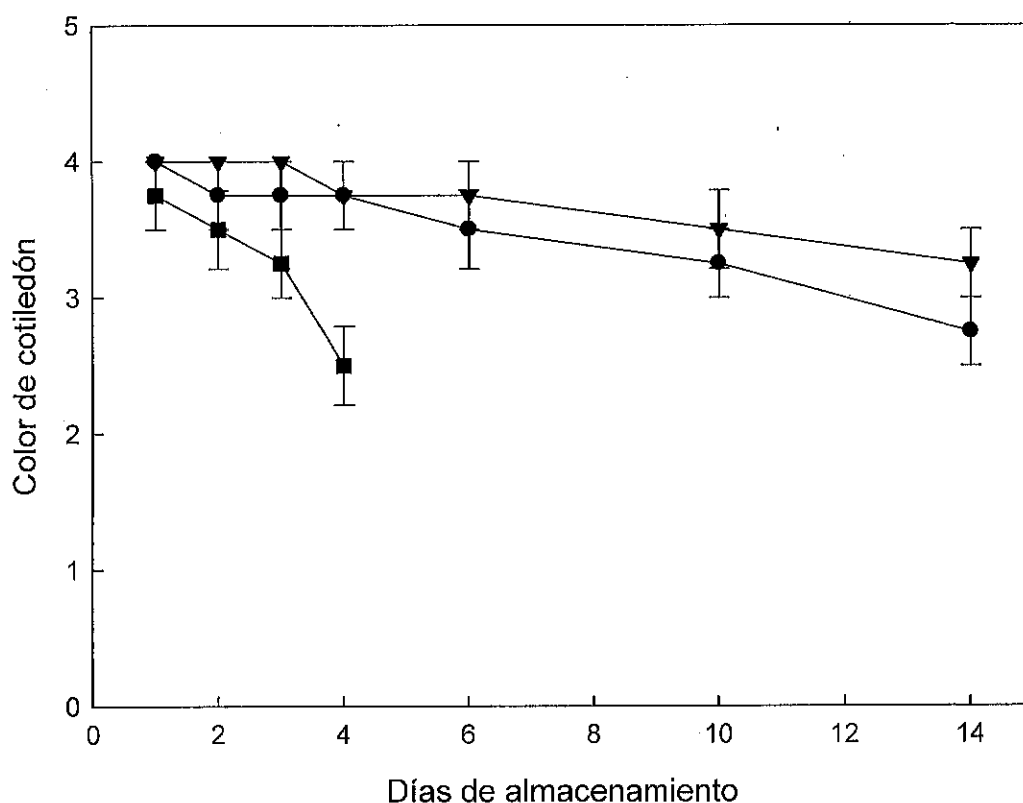


Figura 4. Efecto de la temperatura y empaque en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C; (▼) Película plástica a 5 °C; (■) Película plástica a 25 °C

Este comportamiento se debe a que probablemente existió una acumulación de CO_2 dentro del empaque. Se ha reportado que altos niveles de este compuesto en productos empacados causa deterioro de la calidad. En condiciones de 25 °C se observó una producción mayor de metabolitos anaeróbicos. La vida útil del producto se ve reducida a dos días (Figura 4).

En condiciones de bajas temperaturas se mantuvo el color característico de los cotiledones hasta por seis días, en días posteriores el color característico inicia a disminuir a un color café u oscuro.

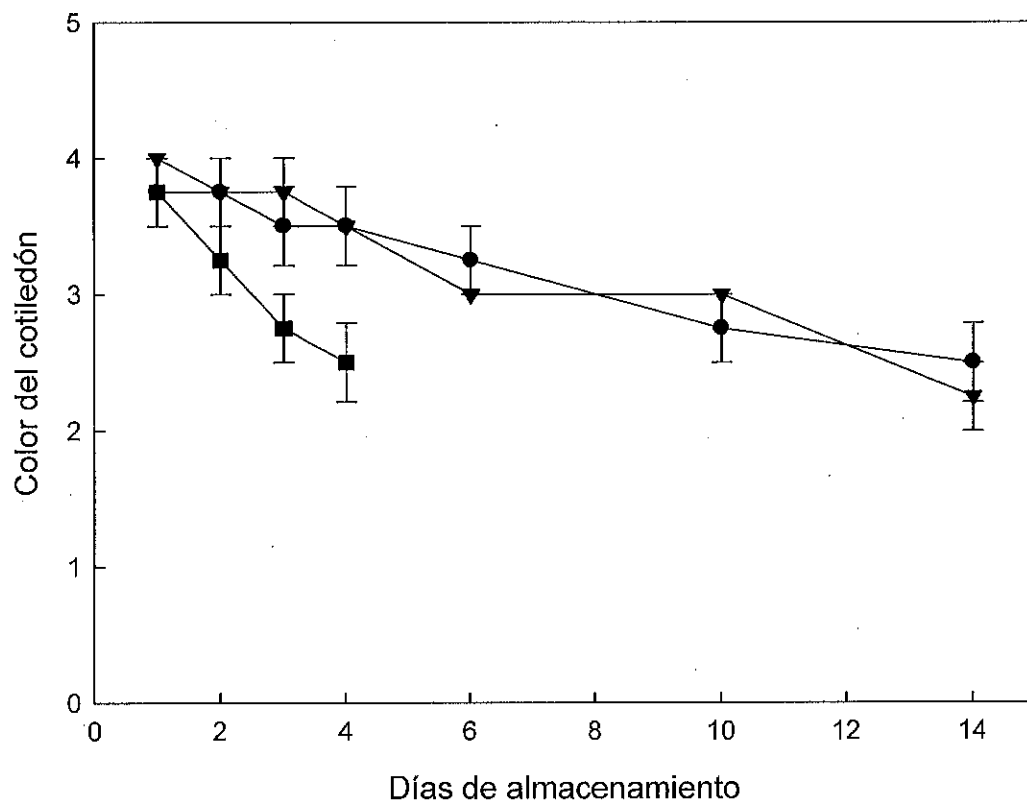


Figura 5. Efecto de la temperatura y empaque en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa empacados en clamshell® durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C; (▼) Clamshell® a 5 °C; (■) Clamshell® a 25 °C.

Song *et al.* (2002) menciona que la tasa de respiración es uno de los factores vitales que aparte de determinar la composición de gases y humedad relativa en productos empacados, puede ocasionar efectos indeseables en los productos resultado de la respiración anaeróbica y acelerar la producción de olores desagradables y disminuir la vida útil del producto.

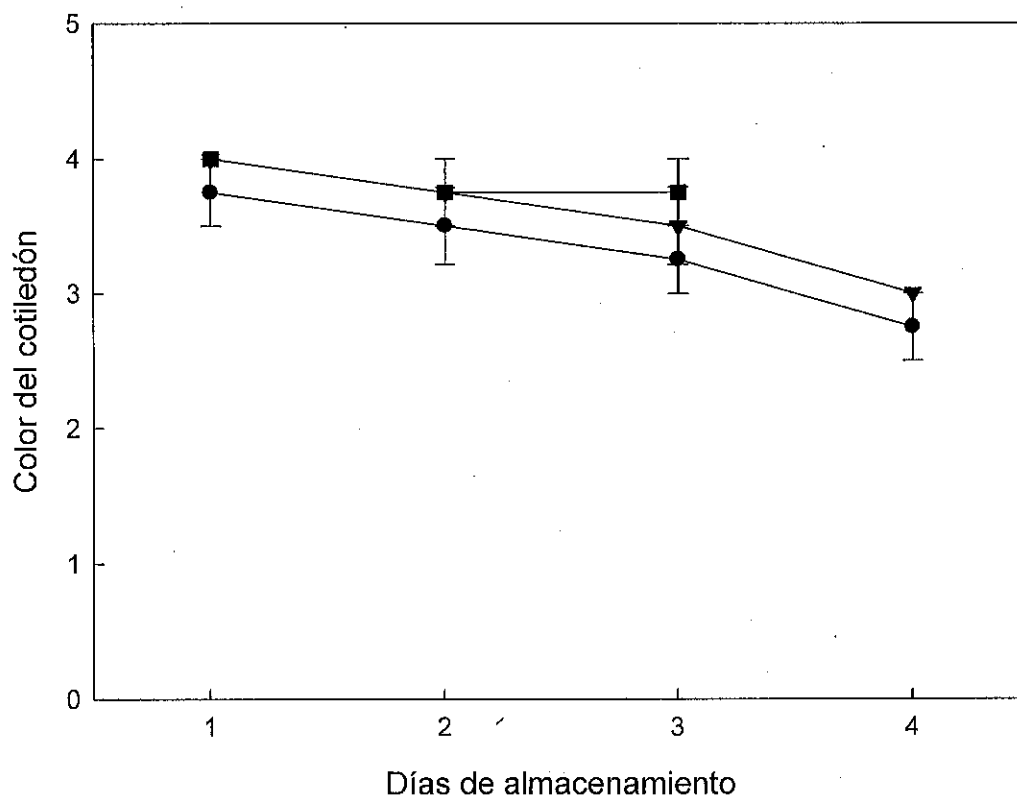


Figura 6. Efecto de la temperatura en el color de los cotiledones de germinados de alfalfa sin el uso de empaques durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C; (▼) Testigo a 5 °C; (■) Testigo a 25 °C.

Después de 10 días del almacenamiento a 1 °C y con el uso del Clamshell® los germinados no son comerciables (Figura 5). Estudios realizados por DELL y colaboradores (2002), donde se evaluaron el uso de empaques comerciales (bolsas de Ziploc®) y temperaturas bajas de almacenamiento en germinados de frijol mungo, mencionan que el color de los cotiledones se ve afectado por las bajas temperaturas, siendo mejor conservado el color característico a temperaturas de 6 °C, que a temperaturas de 1 y 3 °C.

A 25 °C el color característico de los cotiledones se conserva (Figura 6). Después de tres días de almacenamiento a temperaturas bajas y sin el uso de empaques hay una pérdida significativa del color de los cotiledones. Dell y

colaboradores (2002), mencionan que el oscurecimiento de los cotiledones de germinados de frijol mungo aumenta conforme disminuye la temperatura y esto lo atribuye a una posibilidad de daños por frío.

En estudios realizados por Lipton *et al.* (1981) no se reportaron daños por frío en germinados de frijol almacenados a 0 °C durante 7 días, sin embargo reportó que no todos los germinados se comportaron de manera similar.

4.8.3. Color del hipocótilo

El hipocótilo tienen mayor sensibilidad a temperaturas bajas, después de 10 días la calidad la calidad es reducida en gran medida (Figura 7). Pantastico (1984) menciona que la exposición de los productos hortícolas a una temperatura baja propician el presentar una serie de alteraciones en el desarrollo de sus procesos metabólicos normales, que incluyen la muerte de pequeñas partes del tejido, desarrollo de aromas desagradables, manchado de la piel o pulpa, cambios físicos y químicos entre otros. Y a pesar que existe degradación por la senescencia a medio ambiente, la membrana tiene un rompimiento mayor cuando se está en refrigeración.

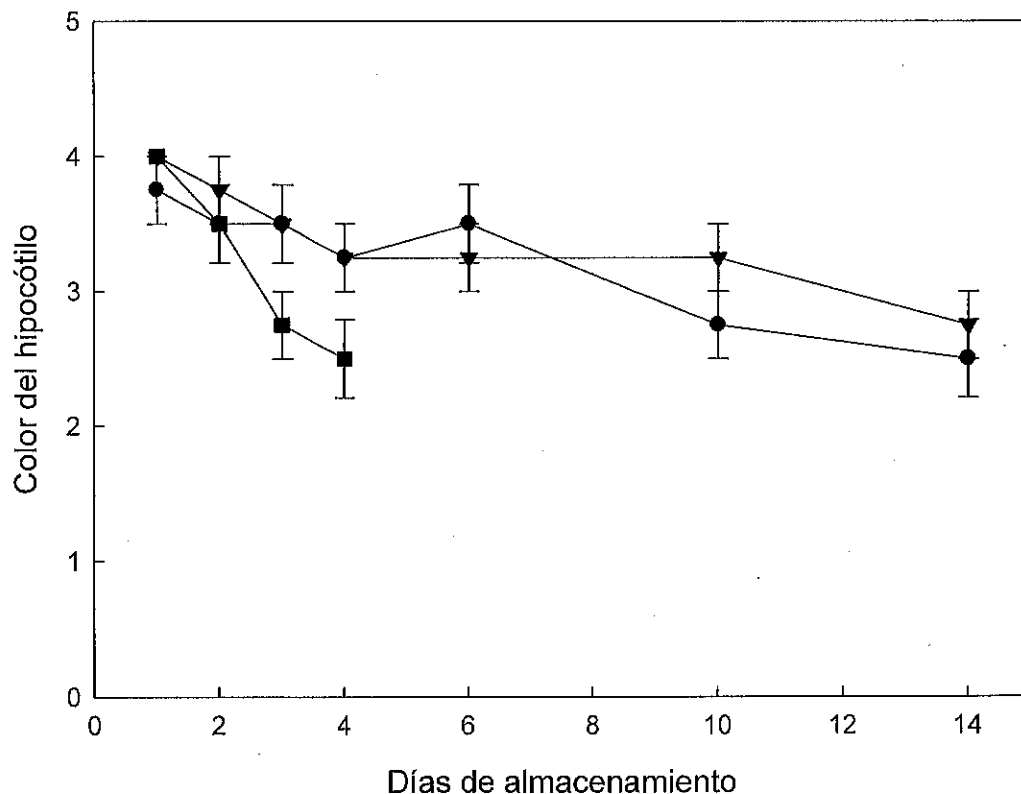


Figura 7. Efecto de la temperatura y empaque en el color del hipocotilo en germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Película plástica a 1 °C; (▼) Película plástica a 5 °C; (■) Película plástica a 25 °C

Se observó un mayor oscurecimiento en los germinados almacenados en Clamshell® y a temperatura de 25 °C, esto puede ser atribuido a la acumulación de CO₂ y las altas tasas de respiración, para el día 10 no se observaron diferencias en el color del hipocótilo a 1 y 5 °C, sin embargo al termino del experimento se pudo observar que a 1 °C hubo mayor daño por frío (Figura 9)

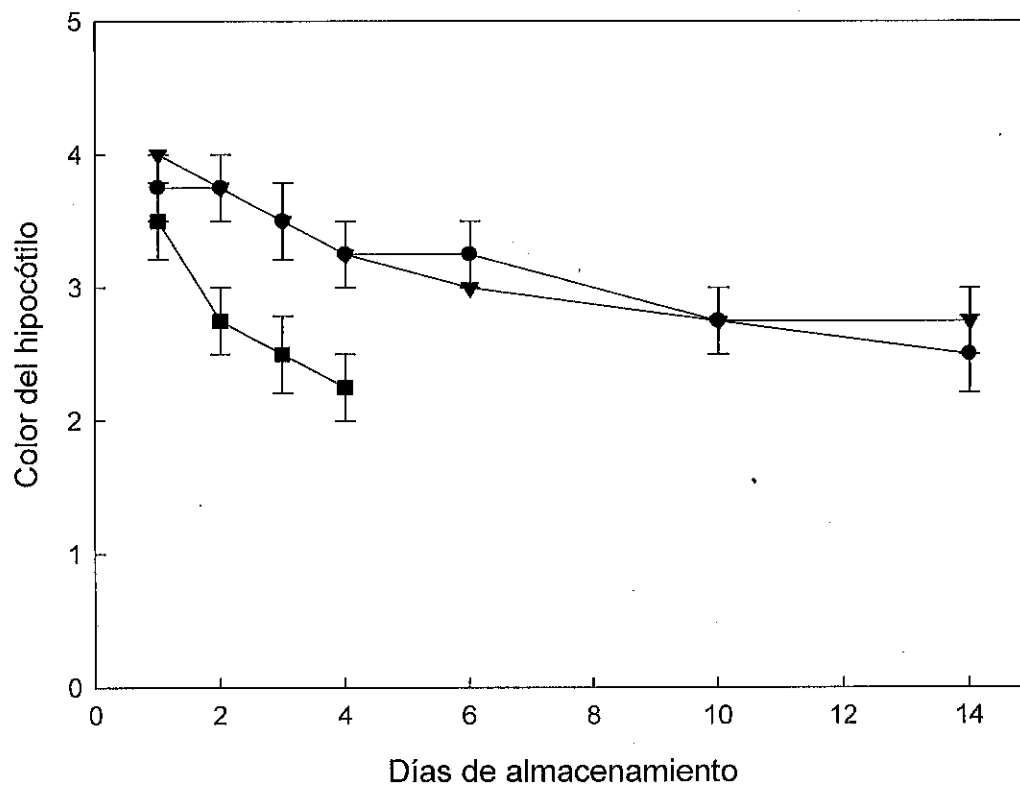


Figura 8. Efecto de la temperatura y el empaque en el color del hipocotilo de germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Clamshell® a 1 °C; (▼) Clamshell® a 5 °C; (■) Clamshell® a 25 °C.

Hubo un mayor oscurecimiento en los germinados a temperaturas bajas y sin el uso de una cubierta plástica, tal como muestra la Figura 9. Después del tercer día después del almacenamiento se observó un aumentó en el oscurecimiento del hipocótilo, así como un aumentó progresivo en este fenómeno.

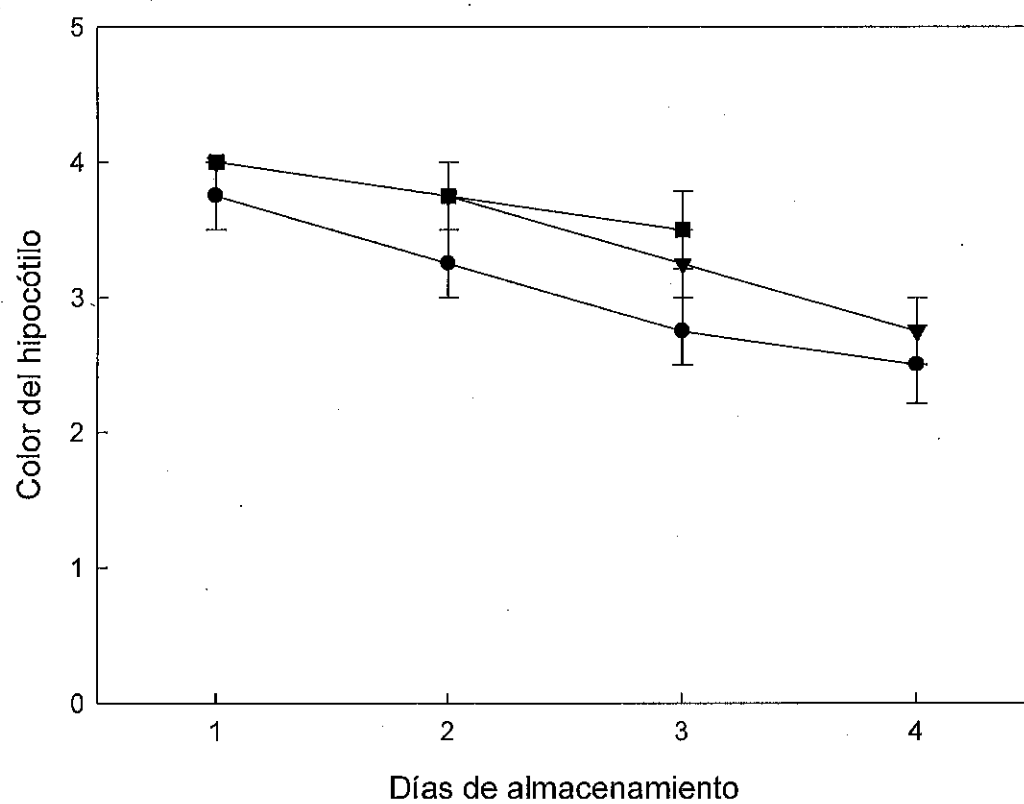


Figura 9. Efecto de la temperatura en el color del hipocotilo en germinados de alfalfa durante el almacenamiento. (●) Testigo a 1 °C; (▼) Testigo a 5 °C; (■) Testigo a 25 °C.

5. CONCLUSIONES

La temperatura de refrigeración influyó en las pérdidas de peso, producción de etileno, tasa de respiración y producción de metabolitos anaerobios, ya que a mayor temperatura las reacciones fisiológicas y bioquímicas se aceleraron.

Los daños por frío se incrementan al prolongarse el periodo de almacenamiento y a temperaturas bajas, dando como resultado disminución en el contenido de pigmentos y oscurecimiento en cotiledones, e hipocótilo.

El uso de empaques tuvo efectos favorables en la disminución de pérdida de peso y en la reducción de daños por frío, sin embargo el empleo del Clamshell® a temperaturas altas trajo como consecuencia un aumento en la producción de metabolitos anaeróbicos, así como una mayor tasa de respiración.

El uso de la película plástica disminuyó las pérdidas de clorofilas y carotenoides, y favoreció la conservación del color característico de los cotiledones y el hipocótilo durante el almacenamiento.

6. BIBLIOGRAFIA

Akbudak, B., a, Hakan, O., Uylaser, V., Karaman B. 2007. The effect of low oxygen and high carbon dioxide on storage and pickle production of pickling cucumbers cv. 'Octobus'. Journal of Food Engineering 78 :1034–1046.

Ammawath, W., Y. B. Chen Man, S. Yosof and R.A. Raoman. 2002. Effects of type of packaging material on physicochemical and sensory characteristics of deep-fat-fried banana chips. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 1621-1627.

Asociación Española de Codificación Comercial (AECOC) 2001. Recomendaciones AECOC para la logística, distribución de productos frescos, embalajes de transporte general. España.

Azevedo-Meleiro, C., Rodríguez-Amaya, D. 2005. carotenoids of endive and New Zeland spinach as affected by maturity, season and minimally processing. Journal of Food and Análisis 18: 845-855.

Barrón, Y. R. 2006. Producción inocua, valor nutritivo y saponinas en el germinado de huazontle, calabaza, canola y amaranto. Tesis. Maestría en Ciencias en Horticultura. Chapingo, Estado de México. pp. 112.

Ben-Yehoshua, S., Burg S.P and Young R.E. 1983. Resistance of citrus fruit to mass transport of water vapor and other gases. Plant Physiolo. 79: 1048-1053.

Bharathi, M S. N. and Varadaraj M. C. 2001. Predicting the behavioural pattern of *Escherichia coli* in minimally processed vegetables. Food control, Volumen 12, Issue 5. paginas 275-284.

Blanckman, R. R. Y Parija, P. 1928. Analitic studies in plant respiration II. Formation of catalytic system for respiration of apples and relation to oxygen. Proc. Royal Soc. (London) B 103, 412.

Boersig, M. R., A. A Kader and R.J. Romani. 1988. Aerobic-Anaerobic respiration transition in pear fruit and culture pear fruit cells. Journal of the American Society for Horticultural Science Volumen 113, paginas 869-873.

Böttcher, H., Günther, I., & Kabelitz, L. 2003. Physiological postharvest responses of common saint-John's wort herbs (*Hypericum perforatum* L.). Postharvest Biology and Technology, 29:342-350.

Brody, A. L. 1996. Envasado de alimentos en atmosferas controladas, modificadas y vacio. 35-41.

Burg, P.S. and Burg, A.E. 1967. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. Plant Physiol. 42: 144.152.

Burzo, I. 1980. Influence of temperature level on respiration intensity in the main vegetables varieties. Acta Horticulturae, 116, 61-64.

Cameron, A. C., Talasila P. Ch and Joles, D. W. 1995. Predictin film permeaility needs or modified- atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. HortScience 30: 25-34 p.

Canché C. E. 2002. Daños por frío, producción de etanol y respiración en pitahayas (*Hylocerus undatus*) sometidas a diversas condiciones de frigoconservación. Tesis de licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo. 119p.

Cantwell, M. 1997. Properties and recommended conditions for storage of fresh fruits and vegetables. http://postharvest.ucdavis.edu/produce/storage/prop_qs.html.

Castaños C. M. 1993. Cap. 1o. Conceptos generales. In: Horticultura manejo simplificado. Estado de México, México . 29 p.

Chan Y.K, Y H Yang, N Li. 1998. Low-temperature storage elicits ethylene production in nonclimacteric lychee (*Litchi chinensis* Sonn) fruit. HortScience 33:1228-1230.

Choi, H.K., Park, S.M., Yoo, C.K. Jeon, C. S. 2001. Effects of shelf temperature on the fruit quality of muskmelon after storage. Korean J. Hortic Sci Technol. 19:2. 135-139.

Corrales, G. J. 1995. Respuestas fisiológicas de frutos de aguacate a la frigoconservación en atmósferas controladas. Tesis doctoral. Colegio de posgraduados, Montecillo, Mex.

Davis, D.D. 1980. Anaerobic metabolism and the production of organic acids, pp 588-611. In: D.D. Davis (ed) The Biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol. 2. Metabolism and Respiration. Academia. New Cork.

Davis P.L. Chase W.G. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas Chromatographic analysis of head space. HortScience. 4:117-119.

De Ell, J. R., Vigneault, C., & Lemerre, S. 2000. Water temperature for hydrocooling field cucumbers in relation to chilling injury during storage. *Postharvest News and Information*, 11(2), 707.

De Ell, J. R., Vigneault, F., Favre, T., Timontly, J. R and Sharokh, K. 2004. Vacuum cooling and storage temperature quality of stored mung bean sprouts. *Hortscience* 35 (5):891-893.

Del Nobile, M.A., Baiano, A., Benedetto, A. and Massignan. 2006. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. *Journal of Food Engineering* 74: 60-69.

Di Gioia , M. A. 1995. Envases y embalajes: como herramientas para la exportación. Ed. Macchi.

Domínguez., T. J. 1992. Efecto de la incidencia de daños por frío sobre la fisiología y calidad de frutos de tuna (*Opuntia amyclaea*). Tesis de Maestría en fruticultura. Colegio de Postgraduados. México.

Fett, W.F., 2002. Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. *International Journal of Food Microbiol.* 72, 13–18.

Fonseca, C. S; Olivera, A. F. and Brech, K. J. 2000. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering.* 52:99-119.

Forney., F. C. and Jordan M.A. 1999. Stress-induced ethanol production. In: *Fresh fruits and vegetables.* HortScience. 31(4). 635 p.

Gandhi, M., Holding, S., Yaron, S., Matthews K.R., 2001. use of green fluorescent protein expressing *Salmonella stanley* to investigate survival, spatial location and control on alfalfa sprouts. *Journal of Food Protein*. 64, 1891-1898.

Garzón, L. S. 1998. Periodo de siembra a cosecha en las características de germinado de calabaza, alfalfa y amaranto. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo Estado de México.

Ghandhi M. and. Matthews K. R. 2003. Efficacy of chlorine and calcinated calcium treatment of alfalfa seeds and sprouts to eliminate *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*. 87, Issue 3. 301-306

Greengras., J. 1995. Películas para el envasado en atmosferas modificadas.pp 23-24. In: Parry, R. T. Envasado de alimentos en atmosferas modificadas. (Ed) Madrid vicente. Madrid España.

Grierson W. and W.F. Wardosky. 1986. Relative humidity effects on the postharvest life of fruits and vegetables. *Hortscience* 14(1): 22-26.

Hansen, M. E., Sorensen, H., Cantwell, M. 2001. Changes in acetaldehyde, ethanol and amino acid concentrations in broccoli florets during air and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* 22: 227-237.

Heins, R. D. 1980. Inhibition of ethylene synthesis and senescence in carnations by ethanol. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 105, 141-144.

Huyskens-Keil, S, Prono-Widayat H, Lüdders P and Schreiner M. 2006. Postharvest quality of pepino (*Solanum muricatum* Ait) fruit in controlled atmosphere storage. *Journal of Food Engineering*. 77:628-634.

Kader, A. A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural crops. E.U. University of California. Davis, USA. 389 p.

Kader, A. A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Technol. 40: 99-104.

Kader, A.A., D. KE., M. Mateos and E. Yahia. 1992. Action of reduced oxygen and elevated carbon dioxide on anaerobic metabolism of Bartlett pears. Hortscience 27:603.

Kader A.A, M. E. Saltveit. 2003. Respiration and gas exchange. In: Postharvest physiology and pathology of vegetables. J A Bartz, J K Brecht (eds) University of Florida, Gainesville, Florida. pp 7-29.

Kader, A.A., Zagory, D., & Kerbel, E. L. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28 (1),1.

Kader, A.A., Zagory, D., & Kerbel, E. L. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28 (1)1.

Karacali, I. 1993. Storage and marketing of horticultural crops (p. 413). Publications of Aegean University Faculty of Agriculture. No: 494.

Kimmerer, T. W. and Koslowski, T.T. 1982. Ethylene, ethane, acetaldehyde and ethanol production by plant under stress. Plant Physiol. 69: 840-847.

Koros, W. J. and Chern R.T. 1987. Separation of gaseous mixtures using polymer membranes. In: Rosseau R.W. (Ed) Handbook of separation process technology. New York: John Wiley and Sons. Pp 862-952.

Lee, D.S., Hagggar P.E. and Yam K.L. 2001. Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *Journal of Food Science*. 56: 1580-1585.

Lehninger, A. L. 1998. *Bioquímica*. Ed. Ediciones Omega. Barcelona España. Pag. 427-448.

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148:350-382.

Lipton, W. J. 1990. Postharvest biology of fresh asparagus. In J. Janick (Ed). *Horticultural Reviews* (12, pp. 69-149) Portland, OR: Timber Press.

Lipton, W.J. and B. E. Mackey. 1987. Physiological and quality responses of Brussels Sprouts to storage in controlled atmospheres. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112:491-496.

Lipton, W.J., Asai, W.K. and Mouse. 1981. Deterioration and CO₂, O₂ and ethylene production of Mung bean sprouts. *J. AMER. Soc. Hort. Sci.* 106:817-820.

Liu F. W. 1992. Preenfriado de productos hortícolas en: Yahia E. M. y Ciapara H. I. (eds.), *Fisiología y tecnología de productos hortícolas*. Ed. Limusa. México.

López, B. S. 2001. Evaluación de películas plásticas sobre la calidad de tuna (*Opuntia spp*) mínimamente procesada bajo condiciones de refrigeración. Tesis. Maestría en Ciencias. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad Especializada en Fruticultura. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco Estado de México. pp 167

Lyons, J.M. and L. Rappaport. 1962. Effect of temperature on respiration and quality of Brussels sprouts during storage. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 73:361-366.

Makiro, Y., and Hirata, T. 1997. Modified atmosphere packaging of fresh produce with a biodegradable laminate of chitosan-cellulose and polycaprolactone. *Postharvest Biology and Technology*, 8, 179-190.

Mateos, M., D.K.E., M. Cantewll., and A.A. Kader. 1993. Phenolic metabolism and ethanolic fermentation in intact and cut lettuce exposed to CO₂ enriched atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 3:225-233.

Maynard, D.N and A.V. Barker. 1972. Internal browning of Brussels sprouts: a calcium deficiency disorder. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* 81: 324-331.

Mazzuz. C. F. 1996 *Calidad de cítricos, manual par gestión desde recolección hasta la expedición*. Ed. Tecnidex. España.

Nicolas. G. M. 1993. Evaluación del potencial de frigoconservación e industrialización de los cultivares de durazno: diamante y oro. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México.

Nur D. Özlem Ö. H.; Bayindirli A. and Ali E. 2004. Modification of water vapour transfer rate of low density polyethylene films for food packaging. *Journal of Food Engineering*. 63:9-13.

Pantastico, E. R. 1979. Fisiología de la posrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Editorial Continental. México 665p.

Parry, R. T. 1995. Envasado de los alimentos en atmósferas modificadas. A. Madrid Vicente, Ediciones. Madrid, España. 56-58 pp.

Pérez G.A.E 1994. Efecto de envolturas plásticas individuales en el control de calidad de frutos de mandarinas "Dancy" almacenados bajo condiciones de refrigeración. Tesis de maestría. C.P. Montecillos, México.

Pesis, E. 2005. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest biology and technology*. 37:1. 19 p.

Pesis, E., Dvir, O., Feygenberg, O., Ben-Arie, R., Ackerman, M., Licheter, A. 2002. Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 26, 157-165.

Pesis, E., R. Marinansky, G. Zauberman and Y. Fuchs. 1994. Prestorage low-oxygen atmospheres treatment reduces chilling injury symptoms in Fuerte avocado fruit. *HortScience* 29: 1042-1046.

Potrero, S. M. 1997. Producción de germinados de ajonjolí y calabaza. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México.

Ramos, C. A. 1997. Producción de germinados de frijol mungo y calabaza pipiana. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México.

Ratti, C. G., Raghavan S. V. and Gariépy Y. 1996. Respiration rate model and modified atmosphere packaging of fresh cauliflower. *Journal of Food Engineering*. Volume 28, Issues 3-4, Pages 297-306

Rocculi, P., Del Nobile M.A., Romani, S., Baiano, A., and Dalla Rosa M. 2006. Use of a simple mathematical model to evaluate dipping and MAP effects on aerobic respiration of minimally processed apples. *Journal of Food Engineering* 76: 334-340.

Rojas, M.A., Grasa-Guillem R and Martin-Belloso O. 2007. Quality changes in fresh-cut apple as affected by ripeness stage, antibrowning agents, and storage atmosphere. *Journal of food science*. 72:1.

Romojaro, F. 1996. Nuevas tecnologías de conservación de frutas y hortalizas. Primera edición. Ed. Mundi prensa. Madrid España. 63-88 p.

S.A.S. 2002. *Statistical Analysis System*, Version 9.0. SAS Institute Inc.

Saltveit, M. E. 2004. Respiratory metabolism. In: The commercial storage of fruits, vegetables, and florist nursery stocks. *Agriculture Handbook Number 66*. <http://usna.usda.gov/hb66/019respiration.pdf>

Saltveit, M. E. 2003. A summary of CA requirements and recommendations for vegetables. *Acta Horticulturae*. 600:723-727.

Saucedo V. C. 1981. Preenfriamiento de frutas y hortalizas; principios, métodos y recomendaciones. UACH. Departamento de Industrias Agrícolas. México. 97 p.

Saucedo, V. C. 1989. Influencia de la conservación en condiciones variables y programadas sobre la fisiología y calidad de mandarina 'Fortune' y aguacate 'Hass' y 'Fuerte'. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.

Schirra, M. 1992. Behaviour of "Star Ruby" grapefruits under chilling and non chilling storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 2, 315-327.

Schlimme D.V. y M.L. Rooney. 1994. Envasado de frutas y hortalizas mínimamente procesadas y Refrigeradas. In: Wiley R.C. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. España: Editorial Acribia. Pp. 131-143.

Singh R. N and Bhunia A. K.2003. Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. Lebensmittel-Wissenschaft. 36 Issue 2:235-243.

Sisler, E.C., Wood, C. 1988. Interaction of ethylene and CO₂. *Physiol. Plant.* 73:440-444.

Stern, S.A., Gareis P.J., Sinclair T.F. and Mohr P.H. 1963. Performance of a versatile variable volume permeability cell. Comparasion of gas permeability measurements by the variable volume and variable pressure methods. *Journal of Applied polymer Science* 7: 2035-2041.

Taiz L. and E. Zeiger.1988. *Plant physiology*. Massachusets: Sinauer Associates, Inc., Publishers. pp. 287-322.

Thomas, M., and J.C. Fidler. 1933. Studies in zymases.VI Zymasis by apples in relation to oxygen concentration. *Biochem. J.* 27:1629-1642.

Thompson J. F., Mitchell F.G. y R.F: Kasmire. 2002. Cooling horticultural commodities. En Kader A.A. *Postharvest technology of horticultural crops*. California: University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis.

Valle- Guadarrama S, C Saucedo-Veloz, C B Peña-Valdivia, J J E Corrales-García, S H Chavez-Franco. 2004. Anerobic-anaerobic metabolic transition in Hass avocado fruit. *Food Sci. Technol. Int.* 10: 391-398.

Viña, Z. S. and Chaves R. A. 2004. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. Food Chemistry. Vol. 94, Issue 1 Pages 68-74

Wang, Y.C. 1982. Physiological and biochemical response of plants to chilling stresses. HortScience 17: 173-186.

William, F. F. 2002. Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. International Journal of Food Microbiology 72: 13– 18

Wills R.H. 1989. Fisiología y manipulación de frutos y hortalizas postrecolección. Ed. Zaragoza España.

Yahia, E. M.1992. Tecnología de atmosferas controladas y modificadas. Primera reunión latinoamericana de tecnología poscosecha. UAM- Iztapalapa. México.

Yahia, E.M. 1995. Use of pasive and semiactive atmospheres to prolong the postharvest life of avocado fruit. Lebensmittel Wissenschaft and Technology 31:602-606

Yang. S.F. and N.E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. Annual Review in plant physiology. 35: 155-189.

Yearsley, C. W., Banks, N. H., Ganesh, S., & Cleland, D. J. 1996. Determination of coger oxygen limits for apple fruit. Postharvest Biology and Technology. 8, 95-125.

Yoonseok, S., Vorsa, N., Yam, Kit L. 2002. Modeling respiration-transpiration in a modified atmosphere packaging system containing blueberry. *Journal of Food Engineering.*, 53: 103-109.

Young-Sang Lee, Yong-Ho Kim, and Sung-Bae Kim. 2005. Changes in the Respiration, Growth, and Vitamin C Content of Soybean Sprouts in Response to Chitosan of Different Molecular Weights. *HortScience* 40: 1333 - 1335