

## EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y 30% DE CO<sub>2</sub> EN LA ACUMULACION DE ETANOL EN PEPINO, LECHUGA Y DURAZNO <sup>1</sup>

Lourdes Yáñez-López<sup>2</sup>/\*, Ron W. Buescher\*\*, Miguel A. Armella\*\*\*

### RESUMEN

### ABSTRACT

El almacenamiento de productos hortifrutícolas en atmósferas controladas (AC) ha sido usado como un complemento a la refrigeración. El uso exitoso del almacenamiento en AC depende de la temperatura, la concentración de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y el tiempo de exposición. Una combinación adecuada de temperatura y niveles de CO<sub>2</sub> es importante, debido a la posibilidad de efectos sinérgicos. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de 30% de CO<sub>2</sub>, combinado con diferentes temperaturas, sobre la acumulación del etanol (ETOH) en pepino, lechuga y duraznos. Los hortifrutícolas fueron colocados, en cámaras separadas, con aire normal y aire con 30% de CO<sub>2</sub>, con 8, 18 y 28°C durante 42 h. La acumulación de ETOH fue evaluada por cromatografía de gases. En pepinos, la acumulación del ETOH fue significativamente mayor a los 18°C, pero no se obtuvo incrementos adicionales a 28°C. En contraste con el pepino, la lechuga y el durazno presentaron la mayor acumulación de ETOH cuando se sometieron a 28°C; una diferencia entre la lechuga y el durazno fue el efecto sinérgico de la temperatura y el CO<sub>2</sub> en durazno. Los resultados indican que en el durazno el efecto de la temperatura fue mayor en presencia de 30% de CO<sub>2</sub>.

**Effect of temperature and 30% CO<sub>2</sub> on Ethanol accumulation in cucumbers, lettuce and peaches.** Storage of fruit and vegetables in controlled atmospheres (CA) has been used to supplement refrigeration; successful use of CA storage depends on storage temperature, concentration of O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, and exposure to those conditions. A suitable combination of temperature and CO<sub>2</sub> level is important, due to their possible synergistic effects. The objective of this study was to determine the effects of 30% CO<sub>2</sub> combined with different temperatures on ethanol (ETOH) accumulation in pickling cucumbers, lettuce, and peaches. Commodities were exposed in separate chambers to 30% CO<sub>2</sub> or air at 8, 18, or 28°C for 42 h. ETOH accumulation was evaluated by gas chromatography. In cucumbers ETOH accumulation was significantly increased by storage at 18°C but 28°C did not cause any further increase. In contrast to cucumbers, lettuce and peaches, stored in 30% CO<sub>2</sub>, showed the highest levels of ETOH when subjected to the highest temperature treatment. A difference between lettuce and peach response was a synergistic effect between temperature and CO<sub>2</sub> treatment in peaches. The effect of temperature was higher in the presence of 30% CO<sub>2</sub>.

1/ Recibido para publicación el 17 de setiembre de 1997.  
2/ Autor para correspondencia.

\* Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Apartado 55-535, México D.F. 09340, México.

\*\* Department of Food Science, University of Arkansas, Fayetteville, AR 72701, U.S.A.

\*\*\* Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana, Apartado 55-535. México D.F. 09340, México.

### INTRODUCCION

El almacenamiento de productos hortifrutícolas en Atmósferas Controladas (AC) ha sido usado como complemento al almacenamiento en refrigeración; su éxito depende de la temperatura de almacenamiento, la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> que se use y el tiempo de exposición (Brecht et al. 1973a, b).

La temperatura afecta las tasas de metabolismo, y tiene un efecto directo en la solubilidad de los gases (Burton 1982), por lo tanto, altas temperaturas incrementan la utilización de oxígeno, de tal forma que disminuye su concentración a nivel intercelular. Esto causa que el tejido vegetal incremente su necesidad de oxígeno y por lo tanto el  $\text{CO}_2$  se acumula, lo que genera una tendencia a la anaerobiosis (Lougheed 1987).

La exposición de frutas y hortalizas a niveles relativamente altos de  $\text{CO}_2$  ha sido estudiada por mucho tiempo. Brooks y colaboradores (1932), aplicaron  $\text{CO}_2$  durante el transporte de varios productos hortícolas, con la idea de sustituir la refrigeración y encontraron que el principal problema era la extracción del calor de campo de los productos frescos antes o en las primeras etapas del transporte. Posteriormente, Smith (1963) sugirió el uso de exposiciones a altas concentraciones de  $\text{CO}_2$  durante breves periodos de tiempo como suplemento a la temperatura del transporte.

Experimentalmente ha sido demostrado que altos niveles de  $\text{CO}_2$  reducen la severidad de los síntomas del daño por frío, en productos como el durazno, la oca y el chile, pero los agravan en pepino (Kader 1986), lechuga (Brecht et al. 1973), pimiento y tomates sazones (Kader 1986).

Combinaciones de diferentes temperaturas con altos niveles de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera de almacenaje han sido utilizados para disminuir el desarrollo de mohos. Sin embargo, son pocos los estudios reportados que han probado la interacción entre las variaciones de la temperatura y los altos niveles de  $\text{CO}_2$  en la acumulación del ETOH (Brecht et al. 1973b, Yamawaki et al. 1983, Kanellis et al. 1988).

A pesar de los múltiples beneficios de las atmósferas ricas en  $\text{CO}_2$ , como las producidas por insecticidas, fungicidas y retardadores de la senescencia, éstas inducen condiciones similares a la anaerobiosis e inducen la fermentación etílica de los frutos. Los frutos producen ETOH que se degrada en acetaldehído, lo que provoca un fenómeno llamado cimasis por  $\text{CO}_2$ ; efecto que produce un olor desagradable y reduce el valor de los productos. Así, la medición de la cantidad de ETOH acumulado en los frutos sir-

ve como un indicador de la resistencia de los frutos al uso de estas AC.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de una concentración de 30% de  $\text{CO}_2$  a diferentes temperaturas en la acumulación de ETOH en 3 frutos con características diferentes: pepinos para encurtidos (pickling cucumbers) que presentan una gran cantidad de espacios aéreos entre sus células; lechuga, de la que se consume las hojas y por lo tanto los espacios aéreos son menores y duraznos que tienen una estructura masiva similar a la del pepino pero con menor cantidad de espacios aéreos.

## MATERIALES Y METODOS

### Material experimental

Entre los materiales en estudio, los duraznos maduros de la variedad "Baby Gold 5" (González et al. 1992) fueron obtenidos de un huerto comercial cerca de Forest City, Arkansas, USA; los pepinos en una granja comercial en Johnson, Arkansas y la lechuga "romanita" en un local comercial en Fayetteville, Arkansas, en donde se venden productos sin ningún tratamiento. Los productos fueron colocados individualmente en diferentes cámaras. La lechuga fue picada en pedazos pequeños y estos mezclados antes de ser introducidos a la cámara en canastillas de plástico (similares a las que se usan para fresa); estas canastillas permiten la aereación del producto y el movimiento irrestricto de los gases entre el tejido cortado. Los pepinos y los duraznos fueron colocados en las cámaras enteros, ya que su superficie de contacto con el aire es proporcionalmente mayor, además de que la cáscara es permeable a los gases.

### Tratamientos

Los productos fueron expuestos a 30%  $\text{CO}_2$  en combinación con 8, 18 y 28°C durante 42 h. Muestras control fueron expuestas a aire normal con las mismas temperaturas.

El aire fue proporcionado por un compresor de aire y filtrado antes y después de la entrada y la salida del compresor. El CO<sub>2</sub> fue obtenido de tanques de gas comprimido. El sistema para mezclar los gases y llevarlos a las cámaras ha sido descrito por Shaw y Kattan (1971).

Los niveles de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en las mezclas fueron verificados por cromatografía de gases usando un separador de gases Fisher Hamilton® modelo 29 (Kattan et al. 1965).

### Determinación del ETOH

Inicialmente, fueron realizados ensayos de estandarización de los métodos, con soluciones conocidas de ETOH, para asegurar la reproducibilidad de los datos. Con el fin de reducir la interferencia de las sustancias menos volátiles, los métodos se enfocaron al uso de los gases contenidos en el espacio de cabeza (parte superior del tubo de ensayo). Estos trabajos preparatorios se hicieron usando estándares de 10 µL de ETOH, para establecer el tiempo de equilibrio del gas. Al final de por lo menos 1 h, 1 ml de gas se tomó de la parte superior de 40 ml de espacio de cabeza y fue inyectado en un cromatógrafo Gow Mac® serie 750P (Davis y Chace 1969, Pesis et al. 1991). Este cromatógrafo de ionización de llama fue usado bajo las siguientes condiciones: nitrógeno como gas acarreador a 32 ml/min, hidrógeno a 29.5 ml/min, aire a 250 ml/min. La temperatura del inyector fue 175°C, el detector de temperatura a 200°C y 30 cm x 6 mm ID, columna Cromosorb 101 con malla de 80/100, con una temperatura isothermal de 135°C (Norman 1970).

Para cada una de las 3 réplicas fueron colocados 10 g de tejido en un tubo de ensayo de 70 ml (20x2.5 cm) con 10 ml de solución fría (0°C) de NaCl 3M (la solución salina fue usada para prevenir diferencias entre la fuerza iónica de las muestras, que pudieran influir en las presiones de los gases). Para los pepinos y los duraznos se usó únicamente la pulpa, mientras que para la lechuga se usó todo el tejido previamente picado. Las muestras finamente picadas se homogeneizaron por 15 seg, en un homogenizador de tejidos "Tekmar Tissumizer"®, después

de lo cual fueron selladas con un tapón de hule y permanecieron por lo menos 1 h en baño de agua a 35°C, antes del análisis en el cromatógrafo. Este análisis consistió en obtener 1 ml de los 40 ml de espacio de cabeza e inyectarlo en el cromatógrafo de gases. Un estándar de 10 µL de ETOH fue usado previamente para la calibración del aparato. El factor de respuesta (FR) fue usado para el cálculo de las concentraciones, que después fueron verificadas con la curva estándar. Los resultados fueron reportados en µL de ETOH.

### Análisis estadístico

Para el análisis se consideró la exposición a 2 niveles de CO<sub>2</sub> (0 y 30%) y a la temperatura (8, 18 y 28°C) como 2 factores en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x3, según la nomenclatura de Little y Hills (1978). Como unidad experimental se consideró la cantidad de material que había en la cámara, tal y como se indicó arriba y se incluyeron 3 repeticiones de cada una. Se realizó un análisis de variancia de 2 criterios de clasificación con interacciones, usando el paquete estadístico SAS (SAS 1990). Posteriormente, los efectos fueron analizados con la prueba de Rango Múltiple de Duncan, usando el mismo paquete estadístico.

## RESULTADOS

Un análisis preliminar fue realizado para determinar si los materiales en estudio tenían diferente magnitud de respuesta a la concentración de 30% de CO<sub>2</sub> y las diferentes temperaturas de almacenaje. Efectos altamente significativos ( $P \leq 0.0001$ ) entre los productos fueron registrados con respecto a la producción de ETOH. Cada producto tuvo diferente magnitud de respuesta a la exposición al tratamiento; por lo tanto, y para entender más claramente los efectos de la temperatura y el almacenaje con 30% de CO<sub>2</sub>, se hicieron análisis por separado para cada producto.

### Pepino

Los resultados en la Figura 1A provienen del análisis de variancia para la producción del ETOH. El efecto de la temperatura y el tratamiento con CO<sub>2</sub> fueron significativos ( $P \leq 0.05$ ).

La producción de ETOH se incrementó significativamente a los 18°C en comparación con las otras 2 temperaturas en pepino almacenado en aire. En los tratamientos de 30% CO<sub>2</sub> la producción de ETOH siguió el mismo patrón. Los niveles de ETOH fueron mayores en CO<sub>2</sub> que en el aire a la misma temperatura; a los 18°C se observó el mayor incremento en los niveles de ETOH ( $P=0.4844$ ).

### Lechuga

El análisis de variancia para los resultados de acumulación de ETOH indica que los niveles de ETOH alcanzaron su máximo a los 28°C y el mínimo a los 8°C en lechuga almacenada en aire; mientras que en lechuga almacenada en CO<sub>2</sub> se encontró una tendencia similar, pero que resultó estadísticamente significativa (Figura 1B).

Los resultados de la prueba de Duncan mostraron que no existe un efecto de la interacción entre ambos factores, sino un claro efecto de la presencia de CO<sub>2</sub>, ya que los 3 niveles más bajos de ETOH se encontraron en los productos almacenados en aire mientras que los 3 más altos correspondieron a los productos almacenados en CO<sub>2</sub>.

### Duraznos

Tanto la temperatura como el tratamiento de CO<sub>2</sub> resultaron estadísticamente significativos, ( $P \leq 0.05$ ) lo mismo que su interacción (Figura 1C). La acumulación de ETOH se incrementó a medida que se incrementó la temperatura de almacenaje, encontrándose diferencias significativas entre cada una de las temperaturas; por otro lado, la presencia de CO<sub>2</sub> incrementó grandemente la acumulación del alcohol en los tejidos ( $P \leq 0.05$ ).

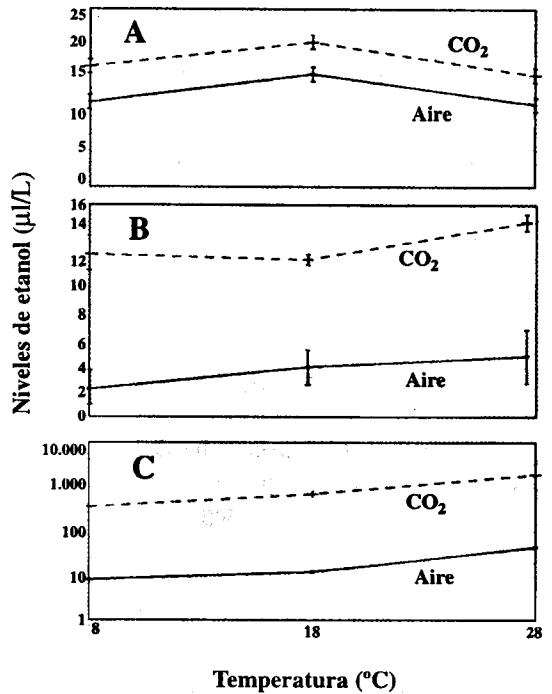


Fig. 1. Niveles de etanol después de 42 h de almacenamiento en: A) pepinos, B) lechugas y C) duraznos.

Estos resultados parecen indicar que, al menos para el caso de los duraznos, la presencia de altas concentraciones de CO<sub>2</sub> en la atmósfera de almacenaje, aumenta el efecto de la temperatura, de forma tal que ambos factores se potencializan para generar una alza en la producción de alcohol.

### DISCUSION

Las diferencias en la respuesta a la combinación de diferentes temperaturas y a la presencia de 30% CO<sub>2</sub> en la atmósfera de almacenamiento, entre los productos analizados, pueden deberse a sus particularidades anatómicas y bioquímicas. La anatomía y morfología de un producto, o aún los grados de humedad en la superficie, pueden determinar la tasa de intercambio de gases, y por tanto, los niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en el interior de los tejidos (Lougheed 1978). Por esto, aún cuando el pepino y los duraznos son

frutos voluminosos, existen diferencias en la acumulación de ETOH, debido a las tasas de respiración y a la permeabilidad de la cáscara y los tejidos internos al O<sub>2</sub> y al CO<sub>2</sub>, como lo ha descrito Burton (1982). La lechuga, por el contrario, es un grupo de hojas empacadas apretadamente, con estomas y tejidos arreglados de una manera diferente a la de los otros productos estudiados. En la lechuga las temperaturas pudieron causar el cierre de los estomas, lo que causó una acumulación del CO<sub>2</sub> dentro de los tejidos como lo observaron Bretch y colaboradores (1973a). Además de las características anatómicas, otras condiciones que varían entre los productos estudiados fueron el pH, el contenido de sólidos solubles totales y los sistemas enzimáticos (Devlin y Witham 1983).

Como se aprecia en la Figura 1A, el pepino parece ser más afectado por la temperatura de 18°C. Resulta interesante notar que a una temperatura mayor (28°C) no se encontró un incremento significativo en la acumulación de ETOH, ya que los niveles reportados a esta temperatura fueron incluso menores que los encontrados a 8°C. Este resultado indica que existe un umbral de temperatura, que de alguna manera, puede incrementar la actividad enzimática en los tejidos. Yamawaki y colaboradores (1983) estudiaron los efectos del "daño por frío" y encontraron que después de 3 días de almacenaje a 1°C, el pepino recuperaba la actividad enzimática de las mitocondrias, cuando era transferido a un almacenamiento de 15°C. Sin embargo, deben de llevarse a cabo otros estudios sobre la actividad enzimática durante la fermentación para poder explicar resultados como los reportados para los otros 2 productos (Drew 1997), en los cuales la mayor concentración de ETOH fue encontrada a la temperatura más alta.

Es importante tomar en cuenta que los resultados encontrados pudieron ser afectados por el área de producción, debido a diferencias en las condiciones ambientales (Abdel-Maksoud et al. 1976). Sin embargo, dado que los hortifrutícolas utilizados en este experimento fueron obtenidos en un área homogénea, se considera que estos son representativos de los productos que llegan a los mercados mayoristas de la zona de trabajo, en este caso el estado de Arkansas, USA.

Los niveles de ETOH detectados en pepino almacenado en 30% de CO<sub>2</sub> (Figura 1A) fueron mayores que los reportados por Kanellis y colaboradores (1988) en pepino almacenado en bajas concentraciones de O<sub>2</sub> a las mismas temperaturas, esto sugiere que la presencia de altas concentraciones de CO<sub>2</sub> en la mezcla de aire puede acelerar el proceso de fermentación.

En el caso de la lechuga, el tratamiento con 30% de CO<sub>2</sub> tendió a incrementar la cantidad de ETOH en los tejidos conforme se incrementó la temperatura. Sin embargo, el efecto del enriquecimiento con CO<sub>2</sub> fue más evidente que el de la temperatura.

Los duraznos presentaron un patrón similar al observado en la lechuga, más que al del pepino, excepto porque, en este caso, la interacción de la temperatura y el CO<sub>2</sub> explican la alta acumulación de ETOH, lo que demuestra un efecto sinérgico entre la temperatura y el CO<sub>2</sub>. Los duraznos son frutos voluminosos (Burton 1982), que a pesar de la resistencia que ejercen los integumentos tuvieron buena aereación a bajas tasas de metabolismo. A altas tasas de metabolismo, causadas por el incremento en la temperatura, el efecto de esta resistencia es mucho más serio, los niveles de O<sub>2</sub> dentro del tejido se reducen y se hacen menos solubles. Esto lleva el ambiente interno hacia la anaerobiosis, con la consecuente acumulación de CO<sub>2</sub> (Drew 1997). Este proceso pudo ser limitado en el pepino debido a la gran cantidad de espacios aéreos.

Finalmente, la acumulación de ETOH en los tejidos como resultado del incremento del CO<sub>2</sub> en la atmósfera de almacenamiento, recientemente ha sido relacionada con la presencia de las llamadas proteínas de choque térmico. Las cuales pueden ayudar al fruto a mitigar los efectos del "daño por frío", esto favorece el uso de bajas temperaturas, como complemento a las atmósferas modificadas, para el transporte a largas distancias de los productos hortifrutícolas.

## AGRADECIMIENTOS

La investigación fue realizada en la Universidad de Arkansas en Fayetteville, USA. Los

autores agradecen a las siguientes instituciones su apoyo económico: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México), Universidad Autónoma Metropolitana (México). Institute of International Education (U.S.A.). Fulbright Institute Scholarship Program (U.S.A.) y Encyclopedia Britanica. Los autores agradecen al Dr. El-Hadi Yahia por la revisión crítica del manuscrito y sus comentarios.

### LITERATURA CITADA

- ABDEL-MAKSOU, M. N.; ABOU-AZIZ, A. B.; ABDEL-KADER, A. S.; ABDEL SAMIE, K. A. 1976. Effect of storage temperature and production areas on the storability of hairy (*Cucumis melo*, L.) and conventional (*Cucumis sativus*, L.) cucumbers. Egypt. J. Hort. 3 (2): 125-134.
- BRECHT, P. E.; KADER, A. A.; MORRIS, L. L. 1973a. Influence of postharvest temperature on brown stain of lettuce. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98: 399-402.
- BRECHT, P. E.; MORRIS, L.; CHEYNEY, L.; JANECKE, D. 1973b. Brown stain susceptibility of selected lettuce cultivars under controlled atmospheres and temperatures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98: 261-264.
- BROOKS, C. E.; MILLER, V.; BRATLEY, C. O.; COOLEY, J. S.; MOOK, P. V.; JOHNSON, H. B. 1932. Effect of solid and gaseous carbon dioxide upon transit diseases of certain fruits and vegetables. USDA. Tech. Bull. 318, 59 p.
- BURTON, W. G. 1982. The effect of temperature upon oxygen and carbon dioxide concentrations in the tissues. The physiological implications of structure: exchange of gases. In: Post-harvest physiology of food crops. Longman. U.S.A. p. 95-96.
- DAVIES, P. L.; CHACE JR., W. G. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. HortScience 4: 117-119.
- DEVLIN, R. M.; WITHAM, F. M. 1983. Plant physiology. Willard Grant Press, Boston U.S.A. 517 p.
- DREW, M. C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. Ann Rev. Plant Physiol. and Plant Molecular Biology 48: 191-223.
- GONZALEZ, A. R.; MAUROMOUSTAKOS, A.; PROKAKIS, G. 1992. Influence of year, cultivar and fruit maturity on quality of peach puree. J. Food Quality 15: 97-109.
- KADER, A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Tech. 40:99-104.
- KANELLIS, A. K.; MORRIS, L. L.; SALTVEIT, M. E. 1988. Response of parthenocarpic cucumbers to low oxygen storage. J. Am. Soc. Hort. Sci. 113: 734-737.
- KATTAN, A. A.; PHARR, D. M.; WALKINGSTICK, R. E. 1965. New research techniques for studies of respiration of fruits and vegetables. Ark. Farm Res. 14: 3.
- LOUGHEED, E. C. 1987. Interactions of oxygen, carbon dioxide, temperature and ethylene that may induce injuries in vegetables. HortScience 22: 791-794.
- NORMAN, S. 1970. Comparison of two porous polymer columns for gas chromatographic analysis of acetaldehyde, methanol, ethanol and other volatiles emanating from intact 'Valencia' oranges. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 777-780.
- PESIS, E.; ZAUERMAN, G.; AVISSAR, I. 1991. Induction of certain aroma volatiles in feijoa fruit by postharvest application of acetaldehyde or anaerobic conditions. J. Sci. Food Agric. 54: 329-337.
- SAS INSTITUTE. 1990. SAS user's guide: statistics, version 6 ed. SAS Institute, Inc., Cary, N. C.
- SHAW, G.W.; KATTAN, A. A. 1971. Development of experimental C.A. generator. Ark. Farm Res. 20: 3.
- SMITH, W. H. 1963. The use of carbon dioxide in the transport and storage of fruits and vegetables. In: Advances in food research. Ed. by C.O. Chichester, E.M. Mrak and J.F. Stewart. p. 114-116.
- YAMAWAKI, K. I.; YAMAUCHI, N.; CHACHIN, K.; IWATA, T. 1983. Relationship of mitochondrial enzyme activity to chilling injury of cucumber fruit. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 52: 93-98.