



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Ingeniería en Alimentos

Evaluación del envasado al vacío como técnica de conservación de lechugas (*Lactuca sativa* L.)

IV gama

Memoria presentada como parte
de los requisitos para optar al
título de Ingeniero en Alimentos.

Carlos Jonathan Leiva Alarcón

Valdivia – Chile

2013

PROFESOR PATROCINANTE:

Sr. Fernando Figuerola Rivas
Ingeniero Agrónomo, M.S. Food Science
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES:

Sra. Marcia Costa Lobo
Ingeniero Civil Bioquímico, Diploma Ingeniería Industrial
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sr. Kong Shun Ah Hen
Ingeniero en Alimentos, Dipl-Ing., Dr.-Ing.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
2	MATERIAL Y METODOS	11
2.1	Lugar de realización	11
2.2	Materia prima	11
2.3	Proceso de elaboración	11
2.3.1	Pesajes	11
2.3.2	Acondicionamiento	12
2.3.3	Lavado	12
2.3.4	Corte	12
2.3.5	Higienizado	12
2.3.6	Enjuague	12
2.3.7	Centrifugado	12
2.3.8	Envasado	12
2.3.9	Almacenamiento	12

2.4	Parámetros microbiológicos a evaluar	12
2.4.1	Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos (RAM).	14
2.4.2	Detección de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i>	14
2.4.3	Detección de <i>Salmonella sp.</i>	15
2.4.4	Presencia o ausencia de anaerobios facultativos y anaerobios estrictos	16
2.5	Análisis de Color	16
2.6	Diseño experimental	16
2.6.1	Tratamientos	17
2.6.2	Análisis estadístico	17
3	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	18
3.1	Evaluación del recuento de aeróbios mesófilos totales (RAM).	18
3.1.1	Efecto del envasado en el RAM	19
3.1.2	Efecto de la concentración de cloro en el RAM	19
3.2	Determinación del número más probable (NMP) de bacterias coliformes totales	20
3.2.1	Efecto del envasado al vacío en el número más probable de bacterias coliformes totales	20
3.2.2	Efecto de la concentración de cloro en el número más probable de bacterias coliformes totales	20
3.3	Determinación del número más probable de bacterias coliformes fecales	21

3.4	Detección de <i>Salmonella sp.</i> en la materia prima	21
3.5	Presencia o ausencia de anaerobios facultativos y anaerobios estrictos	21
3.6	Determinación de la calidad a través de la medición del color	21
3.6.1	Variabilidad del valor a* según tratamientos	22
3.6.1.1	Efecto del tipo de atmósfera en la variabilidad de a*	22
3.6.1.2	Efecto de la concentración de cloro en la variabilidad de a*	22
3.6.2	Variabilidad de valor b* según tratamiento.	22
3.6.2.1	Efecto del tipo de atmósfera en la variabilidad de b*	22
3.6.2.2	Efecto de la concentración de cloro en la variabilidad de b*.	22
3.6.3	Variabilidad de valor L*.	23
4	CONCLUSIONES	25
5	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
6	ANEXOS	29

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales problemas de los frutos y vegetales frescos cortados	5
2	Plan de muestreo para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo	14
3	Identificación de los tratamientos para elaboración de IV Gama	17
4	Promedios de recuentos de coliformes totales según tratamientos	20

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama de Flujo para la elaboración de lechugas mínimamente procesadas o de IV gama	13
2	Recuento de aeróbios mesófilos totales para los tratamientos T1, T2, T3 y T4	19
3	Variación en el tiempo para los valores a^* , b^* y L^* , según los tratamientos aplicados a la mezcla de lechugas IV gama	24

INDICE ANEXOS

Anexo		Página
1	Códigos y sus significados	29
2	Resultados recuento aerobios mesófilos por tratamiento.	30
3	Resultados análisis de color para los valores a*, b* y L*	31
4	Tabla ANDEVA para el análisis de RAM según los factores tipo envasado y concentración de cloro	32

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar si el envasado al vacío permite mantener la inocuidad y calidad de lechugas (*Lactuca sativa* L) IV gama. Para ello se evaluó la población de bacterias aerobias mesófilas, coliformes y *Salmonella* sp. Los resultados se compararon con los obtenidos en lechugas envasadas con aire. Se incluyó el análisis de microorganismos anaerobios en las lechugas envasadas al vacío. También fue considerado el análisis de la variación del color a través del tiempo en las lechugas procesadas, usando el modelo cromático CIE L*a*b*. Además, se utilizó cloro como agente higienizante en concentraciones de 80 y 40 ppm.

Los resultados del recuento de aerobios mesófilos determinaron que el envasado al vacío tiene un efecto importante en el control de crecimiento de estos microorganismos, siendo mejor que el envasado con aire. Sin embargo, en el resto de los análisis microbiológicos, así como en el cambio de color, no existieron diferencias entre estos. No se encontró presencia de microorganismos anaerobios estrictos en el producto, pero sí de anaerobios facultativos.

El envasado al vacío cumplió con todos los parámetros microbiológicos establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) chileno para productos mínimamente procesados o de IV gama hasta el día 7 de almacenamiento, por lo tanto, las lechugas envasadas al vacío no representan un riesgo para el consumidor.

Palabras claves: IV gama, envasado al vacío, lechugas, microbiológico.

SUMMARY

The objective of the present research was to determine if the vacuum packaging allows you to maintain the safety and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L) IV gamma. This was assessed through the population of mesophilic aerobic bacteria, coliform, and *Salmonella* sp. The results were compared with those obtained in lettuce packaged with air. It included the analysis of anaerobic microorganisms in lettuce vacuum-packed. It was also considered analysis of the variation of color through time in lettuce processed, using the color model CIE L * a * b *. In addition, chlorine was used as sanitizing agent in concentrations of 80 and 40 ppm.

The results of the count of aerobic mesophiles determined that the vacuum packaging has an important effect on the control of growth of these microorganisms, still better than the packaging with air. However, in the rest of the microbiological analysis, as well as the change of color, there were no differences between these. There was no presence of strict anaerobic microorganisms in the product, but if of facultative anaerobes.

The vacuum-packaging comply with all microbiological parameters established by the Chilean Regulation of the Health Food for minimally processed products or IV range up to the day 7 of storage, therefore, the vacuum-packed lettuce do not represent a risk to the consumer.

Key words: IV gamma, vacuum packaging, lettuces, microbiological.

1 INTRODUCCION

Los vegetales “mínimamente procesados” o de IV gama, son productos parcialmente elaborados que no requieren de preparación adicional para su uso. Generalmente se elaboran para restaurantes, comedores institucionales, locales de comida rápida y mercados al detalle (WATADA Y QI, 1999). El grado de procesamiento varía según el vegetal, pudiendo presentarse pelados, cortados, rallados, etc. Los métodos de procesamiento mínimo modifican muy poco los atributos y características originales del producto fresco. Los vegetales mínimamente procesados deben tener una vida útil suficiente que les permitan ser transportados desde la planta procesadora hasta el consumidor, llegando a él en buenas condiciones (OHLSSON, 1994).

Según Polenta (1999), citado por ROJAS (2005), la duración de estos productos debe tener entre 7 a 10 días (no es recomendable su consumo pasada esta fecha de caducidad), para satisfacer las necesidades de los consumidores actuales. Esto se logra teniendo presente medidas como mantener una cadena de frío, usar preservantes (discutido entre autores), usar materia prima de excelente calidad, entre otras.

LOPEZ-GALVEZ y CANTWELL (1996), señalan que la naturaleza de la demanda de los productos mínimamente procesados es que sean visualmente aceptables y atractivos al consumidor, por lo tanto, deben tener apariencia fresca, calidad homogénea y estar razonablemente libre de defectos. Los defectos de campo, como por ejemplo el *tipburn*¹ en lechuga, pueden reducir la calidad del producto procesado porque el tejido café se distribuye homogéneamente en el producto envasado y así afecta a su aceptación final en el mercado consumidor.

El primer objetivo de la IV gama es responder a un problema del consumidor, ya que éste debe consumir ciertos vegetales previamente limpios, lavados cuidadosamente, para evitar cualquier tipo de contagio de enfermedades, lo que causa un gasto de

¹ Tipburn: Fisiopatía de la planta que se caracteriza por la aparición de necrosis en las puntas de las hojas más jóvenes y que se origina fundamentalmente por la falta de calcio. También aparece por un excesivo calor, salinidad, exceso de nitrógeno y defecto de potasio, desequilibrio de riegos y escasa humedad relativa. (KOYAMA et al., 2012)

tiempo indeseado. La causa anterior tiene una incidencia negativa en el consumo de esos vegetales, y a partir de esta constante, el sector de frutas y hortalizas frescas conciben un nuevo mercado de entrada para estos productos que están listos para el consumo, siempre “frescos”, y que evitan las molestias de su preparación. Los alimentos mínimamente procesados abren un nuevo mercado, el de aquellas personas que por falta de tiempo o comodidad no consumen hortalizas o frutas de difícil preparación. (ROJAS, 2005).

La extensión de la vida útil de los alimentos mínimamente procesados afronta dos problemas básicos. Primero, el tejido vegetal es un tejido vivo en el que interactúan muchos fenómenos (deshidratación, oxidación, elevada velocidad de respiración, actividad enzimática) algunos de las cuales, si no son controladas, pueden conducir a la rápida senescencia o al deterioro en la calidad. Segundo, la posibilidad de desarrollo microbiano es mayor debido a la mayor superficie expuesta, la presencia de jugos celulares, etc. por lo que la proliferación microbiológica (tanto alterante como patógena) debe ser minimizada y retardada (PIAGENTINI *et al.*, 2003).

La senescencia de los vegetales depende tanto de factores intrínsecos como extrínsecos.

Dentro de los factores intrínsecos están en primer lugar la respiración y emisión de etileno, ya que a mayor respiración y producción de etileno, menor es la vida comercial de estos productos (aplicación de atmósfera controlada y bajas temperaturas controlan esto). En segundo lugar está la acidez del medio, debido a que a pH menores de 4,5 se inhibe, en general, el crecimiento bacteriano, aunque se desarrollan microorganismos del género fúngico y bacterias acidófilas. En tercer lugar está el estado de madurez lo el cual determina la calidad de la materia prima que es procesada (ARTÉS, 2000).

Los factores extrínsecos que comúnmente destacan son: los cuidados en la manipulación y elaboración (desgarros en los cortes, tamaños y homogeneidad de los mismos, higiene rigurosa y sistemática, temperatura adecuada); elección de envases de permeabilidad selectiva adecuada al producto (ROJAS, 2005).

SALINAS-HERNANDEZ *et al.*, (2007) señalan que las principales limitantes de la vida útil de las frutas y hortalizas frescas cortadas, tanto de tipo sensorial como

microbiológico y nutricional, están relacionadas con el corte y exposición del tejido vegetal afectando distintos atributos del producto (CUADRO 1).

CUADRO 1 Principales problemas de los frutos y vegetales frescos cortados.

Problema	Atributo afectado
Incremento en la actividad metabólica	Sabor, color, vitaminas
Incremento en la actividad de agua	Sabor y textura
Incremento en la actividad enzimática	Color y sabor
Ablandamiento de los productos	Textura
Oxidación de vitamina C	Valor nutricional
Marchitamiento	Apariencia
Susceptibilidad al ataque microbiano	Sanidad y apariencia
Susceptibilidad a lesiones mecánicas	Apariencia y textura

Fuente: SALINAS-HERNANDEZ *et al.*, 2007

Otra limitante de la vida útil es el pardeamiento enzimático, que corresponde a la formación de compuestos coloreados (melanoides), debido a la oxidación enzimática de los fenoles a ortoquinonas, que a su vez se polimerizan formando los compuestos de color pardo. Las enzimas responsables de este proceso son las fenolasas, polifenol oxidasa, tirosinasas o catecolasas. Este proceso ocurre cuando los tejidos han sido dañados y existe oxígeno y cobre para la catalización de las reacciones (RICHARDSON y HYSLOP, 1993 citados por HORMAZABAL, 1999).

La primera causa del pardeamiento enzimático es la desorganización celular producida por el corte, toda lesión fisiológica, bioquímica o microbiológica que permita la puesta en contacto de la enzima, el sustrato y el oxígeno produce un pardeamiento enzimático. Al trozar la fruta y hortaliza, se deja indefensa a las células, ya que no disponen de epidermis para evitar el contacto con el aire, la respiración se multiplica, se pierde agua, las células comienzan con un proceso de oxidación (pardeamiento de tejidos) y los microorganismos encuentran lugares ideales para su desarrollo. La pérdida de la cadena de frío una vez procesado un producto puede, en pocas horas,

activar estos procesos. Con el uso de frío y de antioxidantes se trata de retrasar, lo más posible, cualquier síntoma de marchitamiento y pardeamiento. Los principales antioxidantes usados son el ácido ascórbico y sus sales (CARBÓNELL, 1990).

La respiración, es la degradación total de los carbohidratos a CO₂, H₂O y energía. Los sustratos de esta degradación, en condiciones aeróbicas, son las hexosas sencillas u otros compuestos orgánicos, como ácidos y grasas (BRAVERMAN, 1980).

Este proceso consume O₂ y por esto, es importante que frutas y hortalizas tengan cierto contenido de oxígeno en el medio del envase, de lo contrario se va a predisponer a la anaerobiosis, generando etanol, tóxico para los tejidos, y que es desagradable desde el punto de vista gustativo. También estas reacciones desprenden agua, y es preciso evitar su condensación en los envases y por ende su acumulación, debido a que conduce al desarrollo de microorganismos perjudiciales. Finalmente, la respiración desprende CO₂ y calor, este último conviene eliminarlo porque un aumento de la temperatura aceleraría estos fenómenos y por lo tanto el deterioro (CHEFTEL y CHEFTEL, 1983).

En el caso de frutas y hortalizas, éstas pueden contaminarse de manera natural con polvo y tierra durante el proceso de cultivo, cosecha, manejo y almacenamiento, y con microorganismos patógenos durante las operaciones de riego, lavado, o tratamientos superficiales con agua (DIAZ SOBAC y VERNON-CARTER, 1999). Por ello, es necesario cumplir con las denominadas Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) durante el desarrollo del vegetal en el campo, combinadas con aceptables métodos higiénicos durante la recolección, procesamiento, envasado, transporte y distribución, que podrían englobarse en las llamadas Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (GÜEMES *et al.*, 1997).

La proliferación de microorganismos en productos de IV gama es principalmente en las zonas de corte de frutas y hortalizas, debido a que se rompen las barreras naturales, lo cual liberan nutrientes celulares los que son utilizados como sustrato en el metabolismo de éstos. El origen de los microorganismos proviene principalmente de la materia prima, la que determina el nivel de contaminación y por ende la calidad de ésta para proceso.

Los alimentos crudos son potencialmente más peligrosos que los alimentos que tienen un tiempo de cocción previo al consumo, ya que el calor destruye muchas de las toxinas producidas por los microorganismos incluyendo *Clostridium botulinum*, además de causar la muerte de patógenos infecciosos como *Escherichia coli* O157:H7 (TAPIA *et al.*, 2005).

Existen diferentes motivos por los que el riesgo de contaminación con microorganismos en frutas frescas cortadas se incrementa con respecto a frutas frescas enteras (de ANCOS *et al.*, 2003 citado por TAPIA *et al.*, 2005):

- El proceso al que se les somete como pelado, cortado (trozos, rodajas, tiras, cubos, etc.), destruye la barrera natural de protección del vegetal, favoreciendo la salida de nutrientes (azúcares, etc.) y la contaminación con microorganismos alterantes o patógenos.
- El perfeccionamiento en el diseño inteligente de combinaciones de distintas tecnologías de conservación o barreras adecuadas a cada tipo de alimento, como la selección del envase (permeabilidad, películas impregnadas con antimicrobianos, etc.) temperaturas y atmósferas modificadas óptimas, ha permitido prolongar la vida útil de las frutas frescas cortadas el tiempo suficiente para que tenga lugar el crecimiento de algunos patógenos humanos que, en otras circunstancias, no hubieran podido alcanzar niveles infecciosos en tiempos de almacenamiento más cortos.

Aunque las bacterias deteriorantes, levaduras y mohos dominan la microflora en frutas, existe presencia ocasional de bacterias patógenas, parásitos y virus capaces de causar infecciones (TAPIA *et al.*, 2005).

NGUYEN-THE y CARLIN, (1994) señalan que las bacterias psicrófilas son las de mayor preocupación en las hortalizas mínimamente procesadas, ya que las temperaturas de refrigeración favorecen el desarrollo de éstas.

Según Beuchat (2002), citado por TAPIA *et al.*, (2005), todos los tipos de frutas y hortalizas tienen el potencial para albergar patógenos, pero *Shigella spp.*, *Salmonella*, *Escherichia coli* enterotoxigénica y enterohemorrágica, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, virus y

parásitos tales como *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis*, y *Cryptosporidium parvum*, son los de mayor importancia en salud pública.

Por ello, es importante realizar recuentos de microorganismos indicadores, tales como mesófilos aerobios totales cuyos niveles no deben superar las 10^5 - 10^6 ufc g⁻¹ de tejido fresco (RODRIGUEZ y MONTAÑEZ, 2000) y verificar la ausencia de coliformes de origen fecal. La extensión de la vida útil y la seguridad de productos comerciales pueden mejorarse significativamente mediante una estrategia coordinada de acciones a lo largo de toda la línea de la producción. El procesamiento rápido, el lavado efectivo y la continuidad de la refrigeración afectan principalmente la extensión de la contaminación en algunos productos tales como la ensalada de lechuga roja (GUERZONI *et al.*, 1996).

El lavado es una de las etapas más críticas en el procesado de vegetales en IV Gama ya que está íntimamente relacionado con la seguridad y vida útil del producto final. El principal objetivo del lavado es eliminar los restos de suciedad y la carga microbiana presente en la superficie del tejido, una de las principales responsables de la pérdida de calidad. Asimismo, esta etapa sirve para enfriar el material vegetal y eliminar los exudados que se producen tras el corte y que pueden favorecer el crecimiento microbiano. Para garantizar la seguridad de estos alimentos, la industria de IV Gama emplea agua clorada en el lavado, por ser el cloro uno de los higienizantes más efectivos.

La modificación de la atmósfera en el interior del envase, que consiste en la reducción del contenido de oxígeno mientras se incrementan las concentraciones de dióxido de carbono y/o nitrógeno, ha mostrado que prolonga significativamente la vida útil de los alimentos perecederos conservados a temperatura de refrigeración (PARRY, 1995).

La atmósfera modificada es en la actualidad la tecnología de conservación más ampliamente utilizada para la comercialización de frutas y hortalizas en fresco. Esta tecnología proporciona un método efectivo y de relativo bajo coste para extender la vida útil de productos hortofrutícolas con garantía de calidad y seguridad (KADER Y WATKINS, 2000).

También está el envasado al vacío que es el método más simple de modificar la atmósfera interna de un envase. El producto se coloca en un envase formado con film

de baja permeabilidad al oxígeno, se elimina el aire y se cierra el envase. El envase sin aire se pliega (colapsa) alrededor del producto, puesto que la presión interna es muy inferior a la atmosférica (PARRY, 1995).

Concentraciones muy bajas de oxígeno y/o muy altas de dióxido de carbono producen un cambio de respiración aeróbica a anaeróbica, lo cual causa la fermentación del producto, generando olores y sabores desagradables, y/o favorece el desarrollo de bacterias anaeróbicas como *Clostridium botulinum* (YAHIA, 1995).

En Chile, el rubro de los vegetales pre-elaborados, ha presentado un importante crecimiento y distribución a lo largo del país, gracias a sus diversos beneficios para los usuarios, cuyo principal rubro es la alimentación masiva como restaurantes, casinos para empresas, casino de colegio, etc. El producto reduce la manipulación en el local, minimiza la generación de basura, baja las posibilidades de contaminación cruzada, hace más rápida su preparación para el uso, ahorrando hora hombre, presenta trazabilidad hasta el campo de cultivo, mayor vida útil gracias al envasado y uso de cadena de frío, entre otros.

El mercado de los productos pre-elaborados, utiliza vegetales frescos, cultivados en diversas zonas del país, con énfasis en la zona central y norte, hasta la IV Región. Se puede indicar que la producción mensual de estos productos (zanahorias, lechugas, acelgas, espinacas, repollos, etc., sin considerar papas, zapallos, y otros para consumo cocido), abarca de 3 a 4 millones de servicios al mes, con gran potencial de crecimiento para generar oportunidades de trabajo tanto en la industria pre-elaboradora, como en el área agrícola de abastecimiento.

Es en este escenario donde en el último tiempo las ferias libres del país han comenzado a vender verduras y frutas listas para el consumo y envasadas al vacío. Así mismo, algunas microempresas han comenzado a elaborar productos de IV gama utilizando el vacío como método de extensión de la vida útil del producto. Estas situaciones motivaron la presente investigación, con el fin de analizar experimentalmente los efectos del envasado al vacío en vegetales, y los posibles riesgos de calidad e inocuidad que podrían presentar los productos de IV gama envasados con esta tecnología, sobre todo, si no se cumplen las condiciones adecuadas de proceso y las Buenas Prácticas de Manufactura.

Como se mencionaba anteriormente, es importante que verduras y frutas dispongan de un contenido de oxígeno en el medio del envase, ya que se trata de productos que respiran. Al aplicar vacío absoluto se va a predisponer a la anaerobiosis, generando etanol y el desarrollo de microorganismos anaerobios. Es por ello que esta investigación apunta a evaluar la efectividad de esta tecnología de conservación en productos denominados de IV gama en cuanto a los estándares de calidad e inocuidad existentes para dichos productos.

El objetivo general de esta investigación es determinar si el envasado al vacío permite mantener la inocuidad y calidad en lechugas de IV gama, evaluando a la vez las ventajas y desventajas de este tipo de envasado con respecto al realizado con aire.

Objetivos específicos:

- Realizar un seguimiento microbiológico al producto durante los días de almacenamiento, según los parámetros que especifican las normas.
- Cuantificar y comparar las pérdidas de color del producto procesado en el tiempo, utilizando como herramienta el software *ImageJ*.

2 MATERIAL Y MÉTODO

La presente investigación formó parte del proyecto INNOVA 07 CT9 PGT-85, “Desarrollo de Productos Agroindustriales de Base Hortícola en el Sur de Chile”.

2.1 Lugar de realización

Se llevó a cabo entre octubre de 2011 y enero de 2012, en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. El proceso de lavado, higienizado y envasado de lechugas se realizó en la Planta de Procesamientos Vegetales del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), en tanto que el sellado y almacenamiento se efectuó en la Planta Piloto del ICYTAL. Los análisis microbiológicos y estudios de vida útil se realizaron en los laboratorios de Biotecnología y de Propiedades Físicas y Funcionales de Alimentos, ambos del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL).

2.2 Materia prima

Las materias primas utilizadas fueron lechugas de las variedades Justin, kendo y Verpia, que fueron recolectadas en la Estación Experimental Agropecuaria Austral (EEAA), ubicada en el sector Cabo Blanco, la cual forma parte de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia.

2.3 Proceso de elaboración

El diagrama de flujo para la obtención de lechugas de IV gama se puede observar en la Figura 1.

2.3.1 Pesajes. Se realizaron dos pesajes a través del proceso para conocer las pérdidas y el rendimiento durante la elaboración.

- Pesaje 1: Se hizo con el producto tal cual llegó a la planta; esto es, sin raíz.
- Pesaje 2: Se hizo dentro del flujo laminar después del centrifugado. Con este peso se obtiene el rendimiento del proceso.

2.3.2 Acondicionamiento. En esta operación se eliminaron las hojas de cobertura, la parte basal y las hojas en mal estado.

2.3.3 Lavado. Las hojas de lechuga se lavaron con agua potable dentro de un canasto con malla, para sacar los elementos extraños de la materia prima, así como la tierra que haya quedado en medio de las hojas.

2.3.4 Corte. Se realizó de forma manual con un cuchillo de plástico, para minimizar el daño

2.3.5 Higienizado. Las lechugas cortadas se colocaron en una malla, para ser sumergidas en soluciones de cloro de 80 ppm y 40 ppm, durante 5 minutos. Se hicieron con estas dos concentraciones distintas para evaluar también el grado de influencia de este factor.

2.3.6 Enjuague. Durante 1 min en agua potable. Para eliminar residuos del cloro.

2.3.7 Centrifugado. Se centrifugó la lechuga ya higienizada durante 3 minutos para dejar seco el producto antes de envasarlo.

2.3.8 Envasado. Se prepararon bolsitas que contenían 30 g de la mezcla de lechugas. Se obtuvieron alrededor de 7 a 8 bolsas por repetición. Posteriormente, se destinó igual número de bolsas para envasarlas al vacío y con aire. Las bolsas utilizadas son de polietileno marca "Cryovac". El sellado de las bolsas se realizó con una maquina envasadora de productos marca PLASPAK modelo VC1600. Esta envasadora cuenta con niveles regulables de tiempo de vacío, tiempo de llenado de gas, tiempo de sellado de las bolsas y tiempo de enfriado.

2.3.9 Almacenamiento. Las bolsas tanto de lechugas envasadas al vacío y con aire se almacenaron en cámara de refrigeración a 5 °C, por un período total de 7 días. La cámara de frío se encuentra en la Planta Piloto del ICYTAL de la Universidad Austral de Chile.

2.4 Parámetros microbiológicos evaluar

En los ensayos realizados se evaluaron el recuento total de microorganismos aerobios mesófilos (RAM), la presencia de coliformes totales y de origen fecal, la presencia de *Salmonella* sp., la presencia de anaerobios estrictos y facultativos.

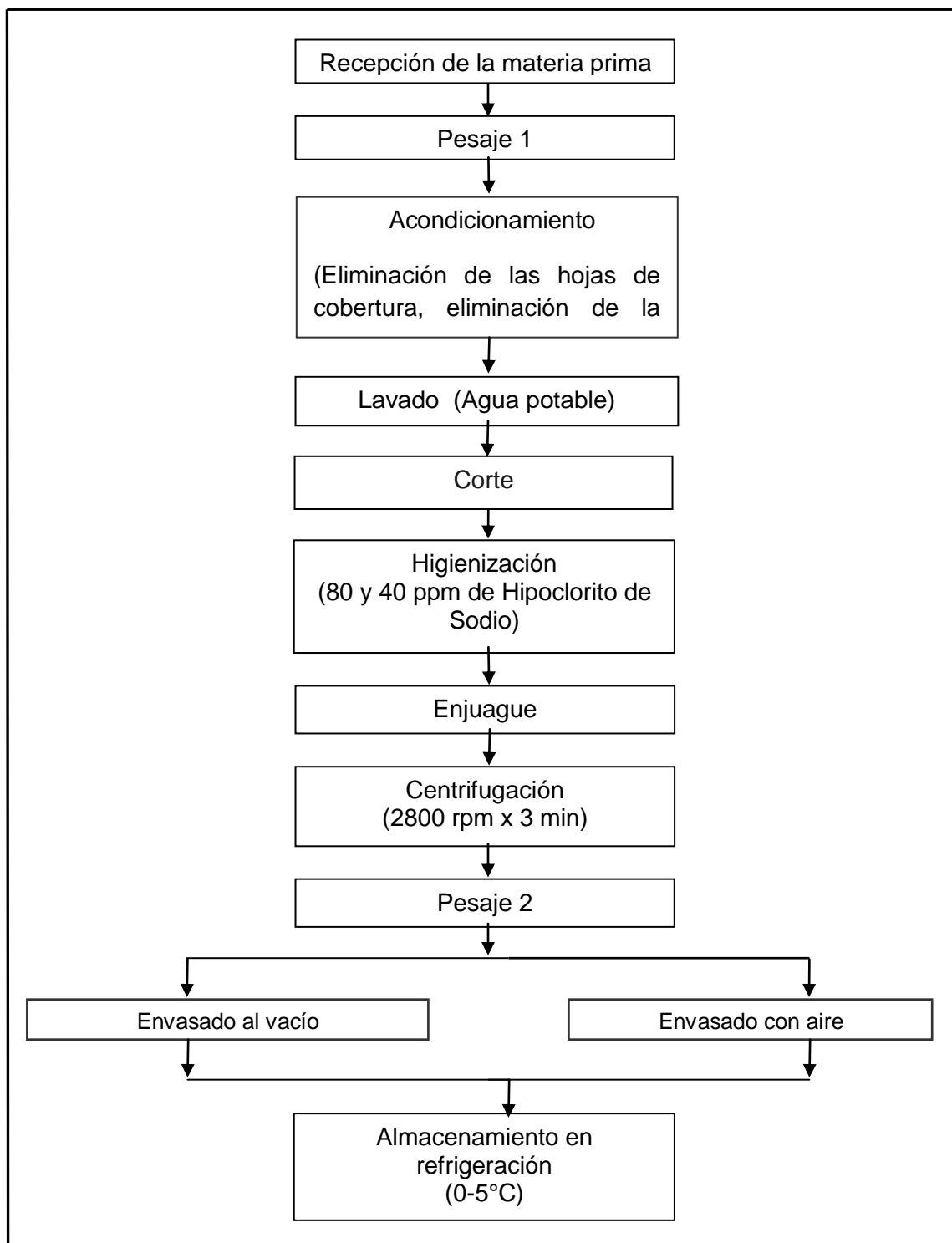


Figura 1. Diagrama de Flujo para la elaboración de lechugas mínimamente procesadas o de IV gama.

En el Cuadro 2 se puede ver el plan de muestreo que estipula el Reglamento Sanitario de los Alimentos para frutas y vegetales preelaborados listos para el consumo, categoría en la que cae el producto a evaluar.

CUADRO 2. Plan de muestreo para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo.

Parámetro	Plan de muestreo				<i>Límite por gramo</i>	
	Categoría	Clases	n	c	m	M
RAM	6	3	5	1	5×10^4	5×10^5
Enterobacteriaceas	6	3	5	1	5×10^3	5×10^4
E.coli	6	3	5	1	10	10^2
S.aureus	6	3	5	1	10	10^2
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	---

Fuente: RSA Chile 2010.

2.4.1 Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos (RAM). Este análisis se realizó a través de la técnica de las diluciones en Agar Plate Count. La primera dilución realizada fue 99 ml de diluyente sobre 11 g de muestra tomada desde la bolsa, quedando la muestra 10 veces diluida. Esta muestra de 11 g se completó con 3.6 g de muestra de cada una de las tres repeticiones hechas para cada uno de los seis tratamientos (especificados en el cuadro 2) para así obtener un promedio de las tres repeticiones efectuando una sola siembra para cada tratamiento. Las diluciones evaluadas fueron 100 veces diluida 10^{-2} (0,01 g de muestra), 1000 veces diluida 10^{-3} (0,001 g de muestra) y 10000 veces diluida 10^{-4} (0,0001 g de muestra). El diluyente utilizado fue un buffer fosfato KH_2PO_4 0,25M, regulado a pH 7,0. Las muestras fueron incubadas a 36°C por 48 horas para luego ser leídas en un contador de colonias. Se seleccionaron las placas que tenían entre 25 y 250 colonias y los resultados fueron informados con un entero y un decimal según lo descrito en el reglamento internacional de recuento microbiológico. Las evaluaciones se realizaron para los tiempos de día cero (producto terminado el mismo día), primero, tercero, cuarto y séptimo día de almacenajes.

2.4.2 Detección de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y E. coli. La cuantificación de coliformes totales, se determinó mediante la técnica del número más

probable (NMP) a través del método de las diluciones. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa.

En la fase presuntiva el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lauril sulfato, el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. Las diluciones son de 10^{-1} (10 veces), 10^{-2} (100 veces) y 10^{-3} (1000 veces). Después se valoraron las características de los tubos, tomándose la producción de gas y/o turbidez como evidencia de un cultivo positivo; mientras que la ausencia de gas y turbidez fue indicativa de un resultado negativo. Durante la fase confirmativa, los tubos positivos de la fase presuntiva son traspasados a caldo lactosa bilis verde brillante e incubados en aerobiosis a 35 ± 1 °C por $24 - 48 \pm 2$ h. Los tubos positivos determinan el NMP de coliformes totales.

La determinación del número más probable de microorganismos coliformes fecales se realizó a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva, los que se traspasaron a caldo *Escherichia coli* (caldo E.C), incubándolos a $44,5 \pm 0,2$ °C por $24 - 48 \pm 2$ h en un baño termoregulado.

Finalmente, la búsqueda de *Escherichia coli* se realiza a partir de los tubos positivos de caldo EC, los cuales se siembran por agotamiento en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno) y posteriormente realizando las pruebas bioquímicas básicas (IMViC) a las colonias típicas en caldo lauril sulfato triptosa.

2.4.3 Detección de *Salmonella sp.* Las muestras fueron sembradas en agua peptonada tamponada (25 g de muestra en 225 ml de agua peptonada) y estas fueron incubadas a 36 °C por 24 horas. La muestra fue traspasada a dos medios preenriquecidos, caldo Rappaport y caldo Tetracionato. El Rappaport fue incubado a baño maría a 41,5 °C por 24 horas y el caldo Tetracionato fue incubado en estufa a 36 °C por 24 horas. Ambos caldos fueron traspasados a dos medios más, uno fue agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) en el cual se realizó la siembra de cada caldo, ocupando la mitad del agar cada uno, con la técnica de siembra por arrastre. El otro agar fue Verde Brillante (BGA), sembrado de la misma forma que el XLD. Ambos

fueron llevados a estufa de incubación a 36 °C por 24 horas. Los análisis se realizaron a la materia prima obtenida desde la EEAA.

2.4.3 Presencia o ausencia de anaerobios facultativos y anaerobios estrictos. El análisis para anaerobios estrictos se realizó en cámaras de anaerobiosis incubadas a 37 °C durante 24 h. La inoculación de las placas se realizó de la misma manera que los aerobios mesófilos. Para el recuento de anaerobios facultativos se tomaron muestras de las colonias que crecieron en anaerobiosis para ser nuevamente inoculadas en medio oxigenado.

2.5 Análisis de Color.

La evaluación del cambio de color, tanto en lechugas envasadas con y sin vacío, higienizadas con 80 ppm y 40 ppm, se realizó tomando fotos a cada una de las tres repeticiones de cada tratamiento, dentro de una cámara iluminada, confeccionada especialmente para este experimento. Las fotografías se realizaron durante los días 0, 3 y 7 de almacenamiento.

Mediante el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ, se obtienen datos objetivos de la variación de color de las lechugas, con los valores L^* , a^* y b^* .

Los tres parámetros en el modelo representan la luminosidad de color (L^* , $L^*=0$ rendimientos negro y $L^*=100$ indica blanca), su posición entre violeta y verde (a^* , valores negativos indican verde mientras valores positivos indican violeta) y su posición entre amarillo y azul (b^* , valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo). Una disminución del valor de L^* y un aumento del valor de a^* es un indicador de oscurecimiento durante el almacenamiento (ROCHA y MORAIS 2001).

Ya que el producto consistió en una mezcla de tres variedades de lechugas, la variación de color se analizó en las hojas con tono verde claro.

2.6 Diseño experimental

Se empleó un diseño factorial de 2 x 2 con 3 repeticiones. Los factores fueron el tipo de atmósfera de envasado (al vacío y con aire) y la concentración de cloro (80 y 40 ppm).

CUADRO 3. Identificación de los tratamientos para elaboración de IV Gama.

Concentración Cloro (ppm) / envasado	Al vacío (V)	Aire (A)
80	80 V	80 A
40	40 V	40 A

2.6.1 Tratamientos. Los tratamientos fueron:

T1: Envasado con aire e higienizado con 80 ppm de cloro

T2: Envasado al vacío e higienizado con 80 ppm de cloro

T3: Envasado con aire e higienizado con 40 ppm de cloro

T4: Envasado al vacío e higienizado con 40 ppm de cloro

Para cada tratamiento, se realizan tres repeticiones.

2.6.1 Análisis Estadístico. Se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) al RAM, NMP y cambio de color. Para cada factor significativo, los tests de rangos múltiples indicaron qué medias son significativamente diferentes de otras. El método utilizado para discernir entre las medias fue el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar cada par de medias como significativamente diferentes cuando la diferencia real es igual a 0.

3 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1 Evaluación del Recuento de aeróbios mesófilos totales (RAM).

Al evaluar estadísticamente (ANDEVA) los resultados del RAM por medio del software Statgraphics, se determinó que los cuatro tratamientos tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el RAM, con un nivel de confianza del 95.0% ($P < 0.05$). La tabla ANDEVA se puede ver en el ANEXO 4.

Varios autores señalan que en general la población de bacterias en lechugas sin procesar oscilan entre $1,0 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^7$ ufc g^{-1} (CARLIN *et al.*, 1989; KHAN *et al.*, 1994; NGUYEN-THE and CARLIN, 1994; JACQUES and MORRIS, 1995; AHVENAINEN, 1996; BABIC *et al.*, 1996; KANEKO *et al.*, 1999 citados por ALLENDE *et al.*, 2004).

Los tratamientos T2 y T4 exhibieron al día 7 de almacenamiento (último día de análisis) un RAM promedio de $9,3 \times 10^2$ ufc g^{-1} y $9,1 \times 10^3$ ufc g^{-1} respectivamente (ver ANEXO 2). Estos valores se encuentran debajo del valor m establecido por el RSA chileno para el parámetro microbiológico RAM en frutas y verduras preelaboradas y mínimamente procesadas, listas para el consumo, el cual es de $5,0 \times 10^4$ ufc/g (CUADRO 2).

En cuanto a las lechugas envasadas con aire, tratamientos T1 y T3, sus valores de RAM en el día 7 fueron de $5,5 \times 10^4$ y $1,4 \times 10^5$ respectivamente (ANEXO 2), situándolos entre los valores m y M del parámetro microbiológico RAM para este tipo de productos. En vegetales de IV gama, el número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre “ m ” y “ M ” para que el alimento sea aceptable (“ c ”), es 1. Esto no se cumplió, ya que todas las unidades de muestra al día 7 mostraron valores entre m y M , por lo que solo se trata de un producto “medianamente aceptable”, en función del valor del parámetro RAM.

En la Figura 2 se aprecian las curvas de crecimiento obtenidas a partir del RAM para los tratamientos T1, T2, T3 y T4. El tratamiento T3, lechugas higienizadas con 40 ppm de cloro y envasadas sin vacío, exhibió el mayor recuento microbiológico durante los

días 0, 1, 3, 4 y 7 de almacenamiento, llegando al último día de análisis con un RAM promedio de $1,4 \times 10^5$ ufc g^{-1} . Estos valores se pueden observar en el ANEXO 2.

El tratamiento con menor valor de RAM fue el T2 (lechugas envasadas al vacío higienizadas con 80 ppm de cloro), al cual en el día 0 de almacenamiento se le cuantificó un RAM de $1,9 \times 10^2$ ufc g^{-1} , para posteriormente en el día 7 de almacenamiento mostrar un RAM promedio de $9,3 \times 10^2$ ufc g^{-1} .

3.1.1 Efecto del envasado al vacío en el RAM. El envasado al vacío demostró una gran eficacia en el control del desarrollo de microorganismos aerobios mesófilos. El análisis estadístico de la varianza señaló que existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las medias del RAM en lechugas conservadas al vacío y las envasadas con aire, siendo las primeras las que presentaron un menor recuento de aerobios mesófilos durante los días de almacenamiento.

3.1.2 Efecto de la concentración de cloro en el RAM. Los resultados del análisis microbiológico para el RAM arrojaron que las lechugas higienizadas con 80 ppm de cloro (T1 y T2) tienen un recuento menor de microorganismos con respecto a las higienizadas con 40 ppm de cloro (ver figura 2). El test de rangos múltiples indicó que la diferencia es estadísticamente significativa entre las medias del RAM según la concentración de cloro utilizada, a un nivel de confianza del 95%.

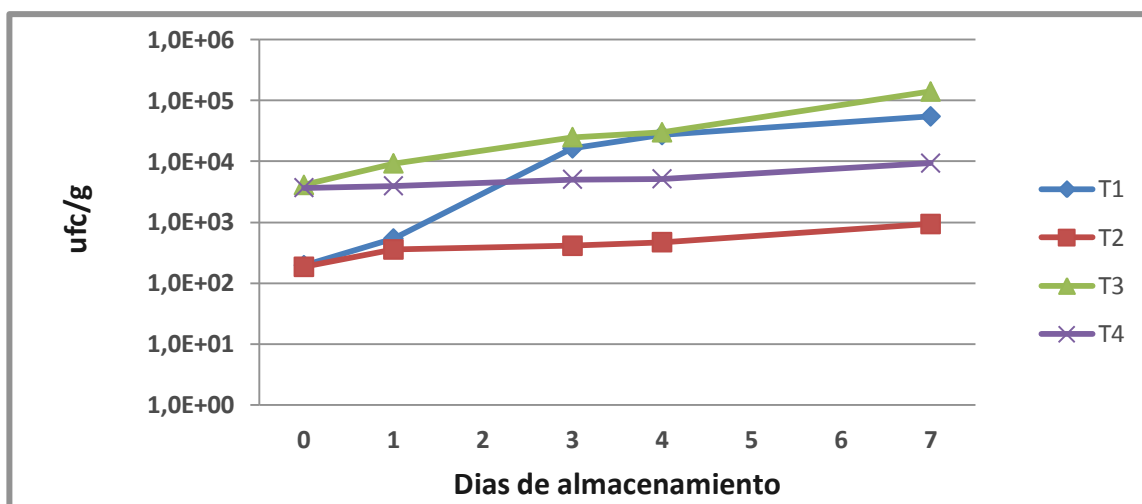


Figura 2. Recuento de aerobios mesófilos totales para los tratamientos T1, T2, T3 y T4.

3.2 Determinación del número más probable (NMP) de bacterias coliformes totales.

En el CUADRO 4 se puede ver el resumen de los valores del NMP para coliformes totales, por tratamiento.

3.2.1 Efecto del envasado al vacío en el número más probable de bacterias coliformes totales. Al evaluar las lechugas envasadas al vacío y con aire, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) sobre el número más probable de bacterias del grupo coliforme con un nivel de confianza del 95%.

3.2.2 Efecto de la concentración de cloro en el número más probable de bacterias coliformes totales. El análisis de varianza señaló que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias el NMP de los niveles de concentración de cloro a 80 ppm y 40 ppm ($P > 0.05$).

CUADRO 4. NMP de coliformes totales según tratamientos.

Día	Tratamiento T1 NMP/ g	Tratamiento T2 NMP/ g	Tratamiento T3 NMP/ g	Tratamiento T4 NMP/ g
0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
1	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
3	7,2	9	7,4	9,4
4	11	19	16	29
7	35	53	43	64

Dentro del grupo de coliformes se encuentra las Enterobacteriaceae. El RSA chileno establece a estas bacterias como parámetro microbiológico para vegetales y frutas preelaboradas (CUADRO 2), y le asigna un valor “m” de 5×10^3 ufc g^{-1} . Los recuentos del NMP de coliformes totales en las lechugas envasadas al vacío y con aire del presente experimento están bajo el valor “m” hasta el día 7 de almacenamiento, por lo que la calidad del producto es aceptable.

3.3 Determinación del número más probable de bacterias coliformes fecales.

En cuanto a la prueba confirmativa de coliformes fecales, no se observaron tubos positivos en ningún tratamiento. Esto se interpreta como $< 3,0$ NMP de coliformes fecales. En consecuencia, no se realizó la búsqueda de *Escherichia coli*, infiriéndose la ausencia de esta bacteria. Por lo tanto, no hay contaminación de origen fecal en el producto.

A partir de los resultados obtenidos del número más probable de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, se puede colegir que no hay mayor diferencia si las lechugas IV gama se envasan al vacío o con aire.

3.4 Detección de *Salmonella sp.* en la materia prima

No se encontró presencia de este patógeno en los análisis realizados a la materia prima, por lo que no se consideró como una variable que mida inocuidad y calidad del producto final.

3.5 Presencia o ausencia de anaerobios facultativos y anaerobios estrictos.

Las pruebas para determinar la presencia de microorganismos anaerobios estrictos en las lechugas envasadas al vacío (tratamientos T2 Y T4) arrojaron como resultado la ausencia de éstos. Sin embargo, sí se desarrollaron colonias de microorganismos anaerobios facultativos.

El envasado al vacío en este experimento redujo la población de microorganismos aerobios mesófilos, pero favoreció el desarrollo de microorganismos anaerobios facultativos. Por lo demás, la temperatura de refrigeración a la cual se almacenó el producto (5 °C) también permite el desarrollo de bacterias psicrótrofas.

3.6 Determinación de la calidad a través de la medición del color.

Se analizó la variación del color a través del tiempo en las lechugas procesadas usando el modelo cromático CIE $L^*a^*b^*$, el cual es usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano

En la Figura 3 se representan la variación de los valores a^* , b^* y L^* , cuyas variabilidades se usan como indicadores de calidad del producto.

3.6.1 Variabilidad del valor a^* según tratamientos. En la Figura 3 se muestra la variación del parámetro a^* determinado a través del software ImageJ. Los valores de este son negativos, lo que indica que el color se mantiene dentro del rango del tono verde. Los tratamientos T1, T2 y T4 presentan un aumento del valor a^* , aunque muy leve, lo que se interpreta como un cambio de color hacia tonos menos verde y más oscuros. El tratamiento T3 no muestra mayor variación entre los días 0 y 7 de almacenamiento.

3.6.1.1 Efecto del tipo de atmósfera en la variabilidad de a^* . El análisis de varianza en ANDEVA determinó que no hay diferencias significativas entre el envasado al vacío y el envasado con aire ($P>0.05$). El factor envasado no tiene significancia en a^* para un 95% de confianza.

3.6.1.2 Efecto de la concentración de cloro en la variabilidad de a^* . No hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias 80 ppm y 40 ppm de cloro. ($P>0.05$). Por lo tanto la concentración de cloro no influye en la variabilidad del valor a^* .

3.6.2 Variabilidad de valor b^* según tratamiento. En la Figura 3 se representa la variación del valor b^* , determinado de la misma manera que el valor a . El análisis de varianza de los resultados reveló que no existe una diferencia significativa entre los distintos tratamientos aplicados, a un nivel de confianza del 95% ($P>0.05$). Al observar el gráfico de b^* en la Figura 3 vemos la tendencia a disminuir del valor b^* en el tiempo, para todos los tratamientos. Como los valores de b^* son positivos, se encuentran en el espectro del tono amarillo. El hecho de que estos valores disminuyeron levemente durante los días de almacenamiento es señal de un oscurecimiento, el cual fue imperceptible a simple vista. No hubo una diferencia de color importante entre el día 0 y 7 de almacenamiento de las lechugas.

3.6.2.1 Efecto del tipo de atmósfera en la variabilidad de b^* . No hubo diferencias significativas entre el envasado al vacío y el envasado con aire ($p>0.05$), por lo que el envasado al vacío no tiene un efecto estadísticamente significativo en la variabilidad de b^* , con un 95% de confianza.

3.6.2.2 Efecto de la concentración de cloro en la variabilidad de b^* . No existió diferencia estadísticamente significativa del valor b^* entre las medias 80 ppm y 40 ppm

de cloro a un nivel de confianza del 95%. Las concentraciones de cloro utilizadas no tienen un efecto estadísticamente significativo en la variabilidad de b^* ($P > 0.05$).

3.6.3 Variabilidad de valor L^* . En la figura 5 se observa el gráfico de la variación del parámetro L^* (luminosidad del color) para los cuatro tratamientos durante los días de almacenamiento. Se puede observar la disminución de L^* desde el día 0 al 7 de almacenamiento en los cuatro tratamientos. En los cuatro tratamientos se observa una tendencia a disminuir en el tiempo. Según ROCHA y MORAIS (2001), la disminución de L^* corresponde a un oscurecimiento de la muestra.

Al observar los resultados de los parámetros a^* , b^* y L^* se notó que hay una leve tendencia hacia el oscurecimiento del producto, pero no es significativa en ninguno de los tratamientos aplicados ($P > 0.05$). Este oscurecimiento se debió a procesos de deterioro característicos del producto (ver CUADRO 1). Las lechugas que se envasaron al vacío (tratamientos T2 y T4) lograron mantener el color del producto al día 7, al igual que las lechugas envasadas con aire. El análisis estadístico señala que no existen diferencias significativas entre los cuatro tratamientos en ninguno de los tres parámetros de color analizados, como tampoco en la variación de estos según los días de almacenamiento, por lo que el producto no muestra un cambio de color notorio o considerable desde el día de elaboración (día 0) al día 7 de almacenamiento. Estos resultados son auspiciosos para el uso de envasado al vacío, considerando además que no se utilizaron antioxidantes en el procesamiento de las lechugas IV gama.

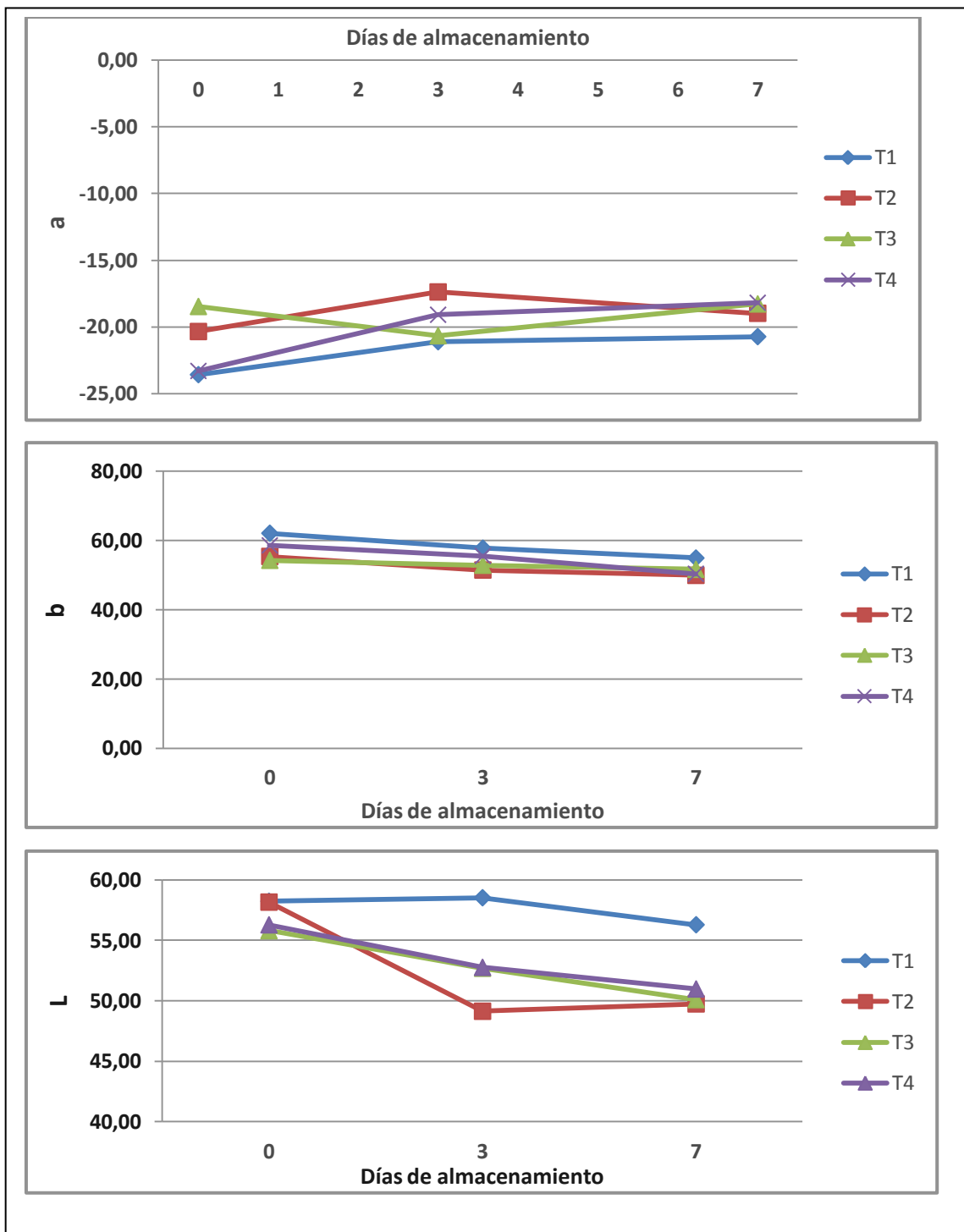


Figura 3. Variación en el tiempo para los valores a^* , b^* y L^* , según los tratamientos aplicados a la mezcla de lechugas IV gama.

4 CONCLUSIONES

- El envasado al vacío mostró una gran efectividad en el control del desarrollo de microorganismos aerobios mesófilos (RAM), exhibiendo mejores resultados que el envasado con aire.
- Según los resultados de la determinación del número más probable de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, se concluyó que no existe diferencia en envasar lechugas IV gama al vacío o envasarlas con aire.
- No hay presencia de microorganismos anaerobios estrictos en el producto, pero sí de microorganismos anaerobios facultativos, los cuales pueden llegar a constituir un riesgo de calidad e inocuidad en el producto si el tiempo de almacenamiento se prolonga por más de siete días.
- El análisis de color CIE L*a*b* permitió establecer que las lechugas procesadas bajo los cuatro tratamientos experimentales conservaron su color y aspecto al séptimo día de almacenamiento, no encontrando diferencias entre el envasado al vacío y el envasado con aire.
- La solución de cloro concentrada a 40 ppm, combinada con el envasado al vacío, resultó suficiente para lograr mantener el RAM por debajo de los valores límite que indica el RSA chileno al día 7 de almacenamiento.
- El envasado al vacío cumplió con todos los parámetros microbiológicos establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) chileno para productos mínimamente procesados o de IV gama hasta el día 7 de almacenamiento, por lo tanto, las lechugas envasadas al vacío no representan un riesgo para el consumidor.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALLENDE, 2004. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *International Journal of Food Microbiology* 91 109–117.
- ARTÉS, F. 2000. Productos vegetales procesados en fresco en: Aplicación del frío al los alimentos. Editor: M. Lamúa. Editorial: Mundi Prensa. Cap. 5. p.p. 127-141.
- BRAVERMAN, J. 1980. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Barcelona, Omega. 355p.
- CARBONELL, X. 1990. La IV Gama II Parte. *Horticultura* 57. 28-46.
- CHEFTEL, J.C. y CHEFTEL, H. 1983. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Zaragoza, Acribia. Vol 1. 333p.
- DÍAZ-SOBAC, R. y VERMON-CARTER, J. 1999. Microbiological safety of fresh and minimum-processed fruits. *Journal of food*. 2(3):133-136.
- GÜEMES, DR. 1997. Survival and growth of Salmonella hadar on minimally processed cabbage as influenced by storage abuse conditions. *Journal of Food Science*. 62(3): 616-618.
- GUERZONI, ME. 1996. Shelf-life modelling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 9:195-207
- HORMAZABAL, P. 1999. Efecto de la IV gama en la mezcla de lechuga (*Lactuca sativa*) tipo escarola y palta (*Persea americana* Mill) cvs. Edranol, Hass y Negra de la cruz. Taller de licenciatura. Universidad Católica de Valparaíso. Quillota. 53p.
- KADER, A. y WATKINS, C. B. 2000. Modified atmosphere packaging—toward 2000 and beyond. *HortTechnology*, 10(3): 483-486.
- KOYAMA, R. 2012. In vitro evaluation of tipburn resistance in lettuce (*Lactuca sativa*. L). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 108(2), 221-227.

- LOPEZ-GALVEZ, G. y CANTWELL, M. 1996. Los productos de cuarta gama en Estados Unidos. *Horticultura* 117: 33-38.
- NGUYEN-THE, C. y CARLIN, F. 1994. The Microbiology of Minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(4): 371-401.
- OHLSSON, T. 1994. Minimal processing- preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Sci. and Technol.* 5:341-344
- PARRY, R. 1995. Envasado de los alimentos en atmósfera modificada. Madrid, Vicente. 331 p.
- PIAGENTINI, A; GÜEMES, D; PIROVANI, M. 2003. Mesophilic aerobic population of fresh- cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. *J. of Food Sci.* 68 (2):602-607.
- ROCHA, A. y MORAIS, A. 2001. Influence of controlled atmosphere storage on polyphenoloxidase activity in relation to colour changes of minimally processed 'Jonagored' apple.
- RODRÍGUEZ, S; MONTAÑEZ, J. 2000. Efecto de diferentes films plásticos en el almacenamiento refrigerado de anco trozado. CIAR 2001, VI Congreso Iberoamericano de Aire Acondicionado y Refrigeración, Bs. Aires, Argentina. Trabajo 018. 501-510
- ROJAS, M. 2005. Sandía (*Citrullus vulgaris*) mínimamente procesada conservadas en atmósferas modificadas, Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Mérida. 71p.
- SALINAS-HERNANDEZ, R., 2007. Modelación del deterioro de productos Vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia* 23 (2): 183-196.
- TAPIA, 2005. Patógenos asociados a frutas frescas cortadas. Incidencia, supervivencia y crecimiento, brotes y control. (On line). <http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/fotos/files_pdf/cuba/tapia.pdf>. (5 Abril 2010).
- WATADA, A; QI, L. 1999. Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology* 15:201-205.

YAHIA, E. 1995. La tecnología de las atmósferas modificadas y controladas. Horticultura internacional 8: 20-25.

6 ANEXOS

ANEXO 1 Códigos y sus significados

Código	Significado
A	Envasado con aire
V	Envasado al vacío
T	Tratamiento
T1	Envasado con aire a 80 ppm
T2	Envasado al vacío a 80 ppm
T3	Envasado con aire a 40 ppm
T4	Envasado al vacío a 40 ppm
R	Repetición análisis

ANEXO 2 Resultados recuento aerobios mesófilos por tratamiento

Repetición	Tiempo (días)	Tratamiento	RAM ufc g ⁻¹
R1	0	T1	2,1x10 ²
R2	0	T1	1,8x10 ²
R3	0	T1	2,0x10 ²
R1	0	T2	1,7 x10 ²
R2	0	T2	2,0x10 ²
R3	0	T2	1,9 x10 ²
R1	0	T3	4,5 x10 ³
R2	0	T3	3,5 x10 ³
R3	0	T3	4,3 x10 ³
R1	0	T4	4,5 x10 ³
R2	0	T4	3,5 x10 ³
R3	0	T4	4,3 x10 ³
R1	1	T1	5,1 x10 ²
R2	1	T1	6,3 x10 ²
R3	1	T1	4,8 x10 ²
R1	1	T2	3,5 x10 ²
R2	1	T2	3,0 x10 ²
R3	1	T2	4,2 x10 ²
R1	1	T3	9,2 x10 ³
R2	1	T3	9,6 x10 ³
R3	1	T3	9,0 x10 ³
R1	1	T4	3,8 x10 ³
R2	1	T4	4,0 x10 ³
R3	1	T4	4,1 x10 ³
R1	3	T1	2,2 x10 ⁴
R2	3	T1	1,0 x10 ⁴
R3	3	T1	1,7 x10 ⁴
R1	3	T2	3,8 x10 ⁴
R2	3	T2	4,0 x10 ⁴
R3	3	T2	4,5 x10 ⁴
R1	3	T3	2,5 x10 ⁴
R2	3	T3	2,3 x10 ⁴
R3	3	T3	2,7 x10 ⁴
R1	3	T4	5,5 x10 ³
R2	3	T4	4,5 x10 ³
R3	3	T4	5,2 x10 ³
R1	4	T1	3,5 x10 ⁴
R2	4	T1	2,1 x10 ⁴
R3	4	T1	2,5 x10 ⁴
R1	4	T2	4,5 x10 ⁴
R2	4	T2	4,9 x10 ⁴
R3	4	T2	4,7 x10 ⁴
R1	4	T3	3,3 x10 ⁴
R2	4	T3	2,8 x10 ⁴
R3	4	T3	2,9 x10 ⁴
R1	4	T4	5,4 x10 ³
R2	4	T4	5,1 x10 ³
R3	4	T4	5,0 x10 ³
R1	7	T1	5,3 x10 ⁴
R2	7	T1	6,1 x10 ⁴
R3	7	T1	5,0 x10 ⁴
R1	7	T2	1,1 x10 ³
R2	7	T2	9,0 x10 ²
R3	7	T2	8,0 x10 ²
R1	7	T3	1,2 x10 ⁵
R2	7	T3	1,4 x10 ⁵
R3	7	T3	1,6 x10 ⁵
R1	7	T4	1,1 x10 ⁴
R2	7	T4	8,0 x10 ³
R3	7	T4	9,0 x10 ³

ANEXO 3 Resultados análisis de color para los valores a*, b* y L*

Repetición	Tiempo (días)	Tratamiento	a*	b*	L*
R1	0	T1	-26,09	67,69	67,09
R2	0	T1	-22,85	59,72	56,90
R3	0	T1	-21,79	58,74	50,71
R1	0	T2	-20,15	57,46	63,93
R2	0	T2	-18,43	47,61	46,18
R3	0	T2	-22,46	60,98	64,39
R1	0	T3	-16,71	55,64	50,95
R2	0	T3	-20,31	56,33	62,33
R3	0	T3	-18,39	50,71	54,13
R1	0	T4	-23,80	62,58	61,81
R2	0	T4	-23,43	56,55	53,26
R3	0	T4	-22,68	56,48	53,79
R1	3	T1	-24,35	65,36	64,28
R2	3	T1	-20,48	53,97	53,37
R3	3	T1	-18,50	53,85	57,93
R1	3	T2	-16,27	46,42	46,33
R2	3	T2	-15,67	47,90	51,99
R3	3	T2	-20,20	56,96	49,09
R1	3	T3	-20,79	54,78	58,01
R2	3	T3	-20,77	54,60	55,97
R3	3	T3	-20,43	49,08	44,10
R1	3	T4	-17,20	47,68	50,46
R2	3	T4	-22,05	54,65	53,65
R3	3	T4	-18,01	49,09	54,19
R1	7	T1	-18,85	61,32	63,49
R2	7	T1	-24,43	66,85	65,55
R3	7	T1	-18,91	54,49	51,84
R1	7	T2	-19,82	61,55	47,05
R2	7	T2	-19,51	50,10	44,36
R3	7	T2	-17,60	53,26	49,74
R1	7	T3	-18,53	47,18	41,65
R2	7	T3	-18,91	60,55	57,68
R3	7	T3	-17,39	62,18	62,98
R1	7	T4	-20,57	52,91	48,33
R2	7	T4	-15,33	55,79	55,43
R3	7	T4	-18,68	51,96	49,18

ANEXO 4 Tabla ANDEVA para el RAM según los factores tipo de envasado y concentración de cloro

Análisis de la Varianza para RAM - Sumas de Cuadrados de Tipo III					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos Principales					
A: Envasado	1,15188E10	1	1,15188E10	430,59	0,0000
B: Cantidad de cloro	2,72997E9	1	2,72997E9	102,05	0,0000
C: <u>Días</u>	1,92444E10	4	4,81109E9	179,85	0,0000
Interacciones					
AB	1,06732E9	1	1,06732E9	39,90	0,0000
AC	1,69492E10	4	4,2373E9	158,40	0,0000
BC	4,19701E9	4	1,04925E9	39,22	0,0000
ABC	3,40558E9	4	8,51396E8	31,83	0,0000
RESIDUOS	1,07004E9	40	2,67509E7		
<hr/>					
TOTAL (Corregido)	6,01823E10	59			
<hr/>					
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.					