

(S5-P113)

## **EVOLUCIÓN DEL COLOR EN LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) MANTECOSA MÍNIMAMENTE PROCESADA: EFECTO DEL TROCEADO Y LA INMERSIÓN EN CLORURO DE CALCIO.**

**ADRIÁN LEÓN, DIANA FREZZA y ANGEL CHIESA**

Cátedra de Horticultura, Facultad de Agronomía UBA. Av. San Martín 4453, (C1417DSE), Buenos Aires, Argentina. Tel.054-11-4524-8000 (int. 8011). Fax.054-11-4514-8737.

Mail to: [aleon@agro.uba.ar](mailto:aleon@agro.uba.ar)

**Palabras clave:** atmósfera modificada pasiva – calidad – colorímetro - clorofilas

### **RESUMEN**

Es conocida la importancia de la calidad en los productos ofrecidos al consumidor y la misma puede ser definida como el "grado de excelencia o seguridad". La calidad puede dividirse en interna y externa. La primera es aquella relacionada con aspectos menos perceptibles como valor nutritivo, inocuidad, sabor, textura y contenido de azúcares, aceites y proteínas. La calidad externa es aquella vinculada a características perfectamente visibles como: color, forma, uniformidad, estado de madurez y presencia de defectos. En el caso de lechuga mantecosa mínimamente procesada y envasada en atmósfera modificada pasiva (EAMP) el color verde es el principal atributo de calidad. Los cambios en la coloración se deben a la degradación de las clorofilas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del troceado y la inmersión en  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  al 2% sobre el mantenimiento del color en hojas de lechuga mantecosa cv. Lores dispuesta en EAMP y almacenada en cámaras refrigeradas a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , y a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 8 días. Los tratamientos evaluados fueron: hojas de lechuga entera y troceada, con y sin inmersión en  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  al 2%. La evolución del color se evaluó por espectrofotometría (determinación del contenido de clorofila total, a y b) y por colorímetro Minolta CR 300 midiendo los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Al finalizar el periodo de almacenamiento se observó un aumento del valor  $a^*$ , indicativo del color verde, en el tratamiento troceado, así como una disminución de las concentraciones de clorofilas a, b y total en todos los tratamientos. El parámetro  $b^*$  incrementó su valor en hojas enteras, mientras que, descendió levemente cuando las hojas se habían troceado. La inmersión en  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  no produjo efectos significativos en hojas almacenadas a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  pero sí a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### **COLOR EVOLUTION IN BUTTERHEAD LETTUCE MINIMALLY PROCESSED: EFFECT OF SHREDDING AND CALCIUM CHLORIDE IMMERSION.**

**Keywords:** passive modified atmosphere; quality; colorimeter, chlorophyll.

### **ABSTRACT**

The importance of the quality in products offered to the consumer is well-known and the same one can be defined as the "degree of excellence or security". The quality can be divided in internal and external. First, is that related to less perceivable aspects like: nutritious value, flavor, texture, sugar content, oils and proteins. The external quality is that tie ones to perfectly visible characteristics like: color, forms, uniformity, maturity stage and presence of

defects. In the case of butterhead lettuce minimally processed and packaged in passive modified atmosphere (MAP) the green color is the main attribute of quality. The changes in color respond to degradation of chlorophylls. The objective of the present work was to evaluate the effect of shredding and immersion in  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  to 2% on the maintenance of the color in leaves of butterhead lettuce cv. Lores in MAP and stored in chambers at  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  or  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  for 8 days. The evaluated treatments were: shredded or intact leaves and with or without immersion in  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  to 2%. Evolution of the color were evaluated by espectrofotometry (determination of a, b and total chlorophyll concentration) and by Minolta CR 300 colorimeter measuring  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  parameter. When finalizing storage period a greater reduction of the value  $a^*$ , indicative of the green color, in the shredded treatment, and a decrease in chlorophyll concentrations in all treatments.  $b^*$  parameter increase its value in whole leaves, whereas, stayed constant when the leaves were shredded. Immersion in  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  did not produce significant effects in stored leaves to  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  but it had effect at  $8 \pm 2^\circ\text{C}$ .

## INTRODUCCIÓN

En la década del '90 se produjo en Argentina un marcado desarrollo de la comercialización de hortalizas mínimamente procesadas (HMP), listas para ser consumidas, y que mantienen las características de producto fresco. Con el aumento de los hogares unipersonales y la incorporación de las mujeres en el mercado laboral, se presentó un aumento en el consumo de estos tipos de alimento por la menor disponibilidad de tiempo en la preparación de los mismos. En principio el desarrollo fue hacia la demanda institucional (hoteles, restaurantes, servicios de catering, etc.) y luego se extendió a consumidores individuales de mayor poder socio-económico, asociado principalmente a los grandes centros de consumo y a la distribución a través de hipermercados, donde representan un 20% del total de las ventas de hortalizas (Watada y Qi, 1999; Viña, 2001; Piagentini y Guemes, 2002).

Las HMP son preparadas para mantener su apariencia natural y al mismo tiempo resultan convenientes para los consumidores ya que están listas para usar. Además del lavado y desinfección los procedimientos realizados pueden incluir pelado, troceado, cubeteado, rallado, rebanado siendo el producto resultante envasado en bolsas o bandejas recubiertas por películas plásticas (Francis et al. 1999; Lanciotti et al. 2004).

Las HMP difieren de las hortalizas intactas en término de su fisiología y de sus requerimientos de manipuleo. Las HMP se deterioran más rápido que las intactas. Esto se debe a las heridas que se producen durante el procesado determinan numerosos cambios físicos y fisiológicos que afectan la vida útil y la calidad del producto (Lanciotti et al. 2004). Dentro de las HMP la lechuga ocupa un lugar importante. La lechuga tipo mantecosa mínimamente procesada registra sobrepuestos en el mercado minorista de la Ciudad de Buenos Aires que alcanzan valores del 200% al 600% respecto al mismo tipo de lechuga entera comúnmente comercializada en verdulerías y supermercados (elaboración propia). Los aspectos que los consumidores aprecian de la lechuga son básicamente el color verde sin decoloraciones ni amarronamientos y la ausencia de marchitamientos. El color es particularmente importante debido a que es la primera característica que los potenciales consumidores registran (Allende et al. 2004).

En cuanto a la lechuga mínimamente procesada, luego del corte característico al deshojado de la planta, la herida producida y la superficie del producto perecedero es expuesta al aire y al posible daño comenzando a ser vulnerable a la deshidratación o al cambio en la coloración, éstos últimos iniciados en la zona de corte se deberían principalmente al pardeamiento enzimático o a la pérdida de clorofila (Ihl et al. 2003).

El calcio es un nutriente esencial que cumple funciones estructurales y también está involucrado en la regulación de muchos aspectos del metabolismo, incluyendo absorción de

iones, permeabilidad de membrana, división celular (White, 2001; White y Broadley, 2003) y como mensajero en muchos procesos de crecimiento y desarrollo (Evans et al. 2001; Reddy, 2001).

La mayor parte de la investigación acerca del calcio y comportamiento postcosecha se llevó a cabo en frutos. El rol central que juega el calcio contribuyendo al mantenimiento de la calidad y a la prevención de desórdenes fisiológicos durante el almacenamiento postcosecha ha sido extensamente estudiado. Inmersiones con calcio se han utilizado para extender la vida postcosecha en manzanas (Withaker et al. 1997), frutillas (García et al. 2003; Suutarinen et al. 2000), mango (Joyce et al. 2001), pera (Thomidis, 2003), ciruelas (Serrano et al. 2004), melones (Luna-Guzman et al. 1999; Luna-Guzman et al. 2000) y mejoran el comportamiento de tomate rebanado (Artés et al. 1999), zanahorias ralladas (Picchioni et al. 1996) y la calidad de ananá (Antoniolli, 2003).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del troceado y la inmersión en  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  al 2% sobre el mantenimiento del color en hojas de lechuga mantecosa cv. *Lores* dispuesta en EAMP y almacenada en cámaras refrigeradas a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , y a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 8 días.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantas de lechuga mantecosa se cultivaron en un invernadero metálico parabólico situado el campo experimental de la cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía (UBA), Buenos Aires, Argentina ( $35^\circ 35' \text{ S.}$ ,  $60^\circ 31' \text{ W.}$ , 25 msnm).

Se utilizaron semillas de lechuga peletizadas del tipo mantecosa (cv 'Lores') sembradas en bandejas de poliestireno expandido de 216 celdas de  $20 \text{ cm}^3$ . Se utilizó un sustrato compuesto por una mezcla en partes iguales (v/v) de arena, lombricompost y turba (*Sphagnum* sp). Los plantines se transplantaron al estado de 4 hojas verdaderas, en canteros de  $5 \times 0,4 \times 0,4 \text{ m}$  de largo x ancho x alto llenos con perlita. La distancia fue 15 cm entre líneas y entre plantas ( $18 \text{ pl.m}^{-2}$ ). Los canteros, armados con plástico corrugado y recubierto con polietileno de 200 micrones de espesor, fueron colocados sobre una superficie plana a nivel del suelo.

Después del transplante, las plantas de lechuga del tipo mantecosa fueron irrigadas con solución nutritiva. La solución nutritiva se almacenó en un tanque y se utilizó un sistema de riego por goteo. Cada planta recibió 500 ml de solución nutritiva por riego, ocho veces al día (Siomos et al. 2001). La composición de la solución nutritiva utilizada fue la descrita por Ki-Young y Yong-Beom (2001) para lechuga del tipo mantecosa.

Las plantas crecieron durante 30 días desde transplante a cosecha de acuerdo a las prácticas comerciales para producción de lechuga. A la cosecha, las plantas provenientes de cada tratamiento fueron recolectadas descartándose las hojas externas dañadas y acondicionando las restantes para su posterior almacenamiento. Previo al envasado, las hojas de lechuga se lavaron con agua clorinada con una concentración de 200 ppm de cloro activo, escurriéndose el exceso de líquido. Por último,  $90 \pm 5 \text{ g}$  de hojas intactas se envasaron en bolsas de poliolefina multicapa PD961EZ de  $31 \mu\text{m}$  de espesor, tasa de transmisión de  $\text{O}_2$ :  $6000\text{-}8000 \text{ (cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ 24 h}^{-1}, 23^\circ\text{C}, 1 \text{ atm})$ ;  $\text{CO}_2$   $19000\text{-}22000 \text{ (cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ 24 h}^{-1}, 23^\circ\text{C}, 1 \text{ atm})$  y vapor de agua:  $0,90 - 1,10 \text{ (g /6,45 dm}^2 \text{ /24, } 23^\circ\text{C}, 100\% \text{ HR)}$ , se sellaron y se almacenaron en cámaras refrigeradas a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  ó a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  por 8 días simulando condiciones óptimas de almacenamiento vs temperatura en góndola del producto. Durante el almacenamiento, cada tres días, se extrajeron muestras midiéndose:

El color de las hojas de lechuga se midió utilizando un cromámetro Minolta CR 300 (Siomos et al. 2001) y tomando los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Para esta determinación se clasificó las hojas según su área foliar (AF): hoja totalmente expandida (HTE)  $\text{AF} > 150 \text{ cm}^2$ ,

medianamente expandida (HME) AF 50 – 150 cm<sup>2</sup> y no expandida (HNE) AF <50 cm<sup>2</sup> de acuerdo a lo descrito por Frezza (2006). Las lecturas se realizaron de la siguiente manera: HTE 6 lecturas totales, tres de cada lado de la nervadura central, uno en la parte superior de la hoja, uno en la zona media y el último en la zona basal; HME 4 lecturas totales, 2 a cada lado de la nervadura central y uno en la parte apical y el otro en la zona basal, por último, en las HNE se realizaron dos mediciones, uno a cada lado de la nervadura y en la parte central de la hoja. En total se efectuaron 12 lecturas por planta y se tomaron tres réplicas por tratamiento.

El contenido de clorofilas ( $\mu\text{g. g}^{-1}$  pf) se determinó en muestras congeladas en N<sub>2</sub> líquido, homogenizando el material y triturando una parte en un molinillo de laboratorio (A11 Basic, de IKA). Finalmente, se tomaron muestras de aproximadamente 0,5 g y la extracción se realizó con 7 ml de acetona mantenidas en contacto por agitación durante 10 minutos. Sobre una alícuota se determinó por espectrofotometría el contenido de clorofilas (Bruinsma, 1963). Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 645, 652 y 663 nm en un espectrofotómetro Agilent 8453E UV-visible y finalmente las concentraciones ( $\text{mg. L}^{-1}$ ) se calcularon por medio de la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Ct} &= 27,8 * \text{Abs } 652 \text{ nm} \\ \text{Ca} &= 12,7 * \text{A}663 - 2,7 * \text{A}645 \\ \text{Cb} &= 22,9 * \text{A}645 - 4,7 * \text{A}663 \end{aligned}$$

Donde

Ca = concentración de clorofila a ( $\text{mg/L}$ )

Cb = concentración de clorofila b ( $\text{mg/L}$ )

Ct = concentración de clorofila total ( $\text{mg/L}$ )

A645 = Absorbancia a 645 nm

A663 = Absorbancia a 663 nm

A652 = Absorbancia a 652 nm

Los resultados se expresaron en  $\mu\text{g}$  de clorofila total.  $\text{g}^{-1}$  pf.

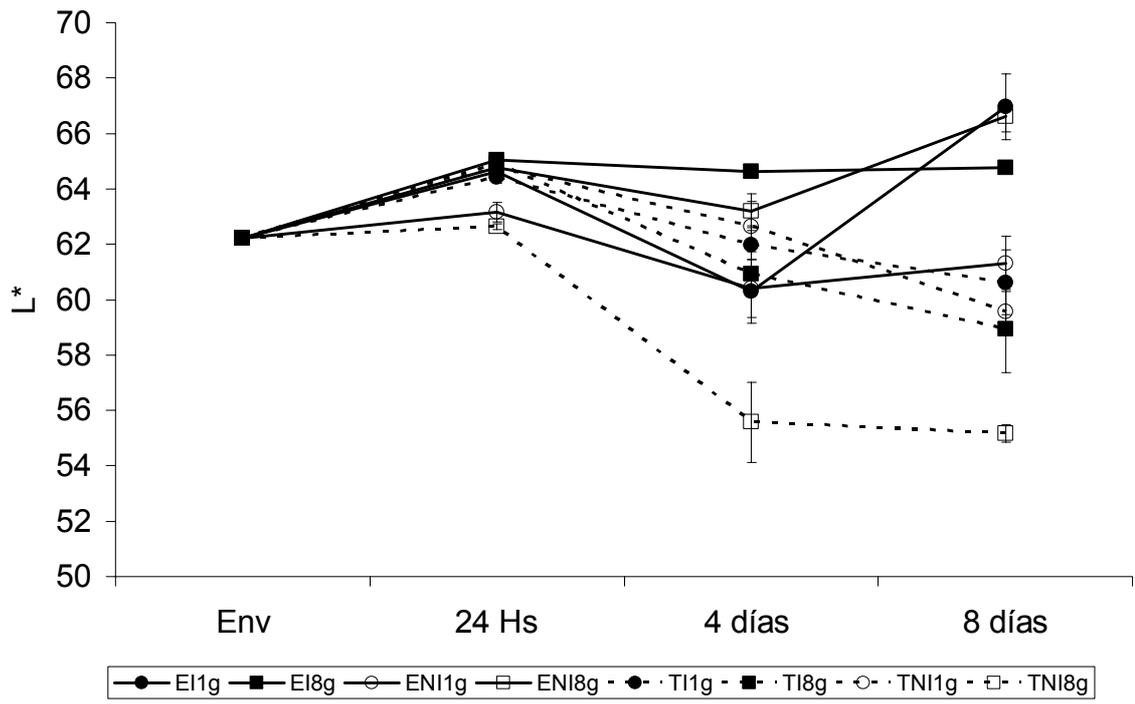
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

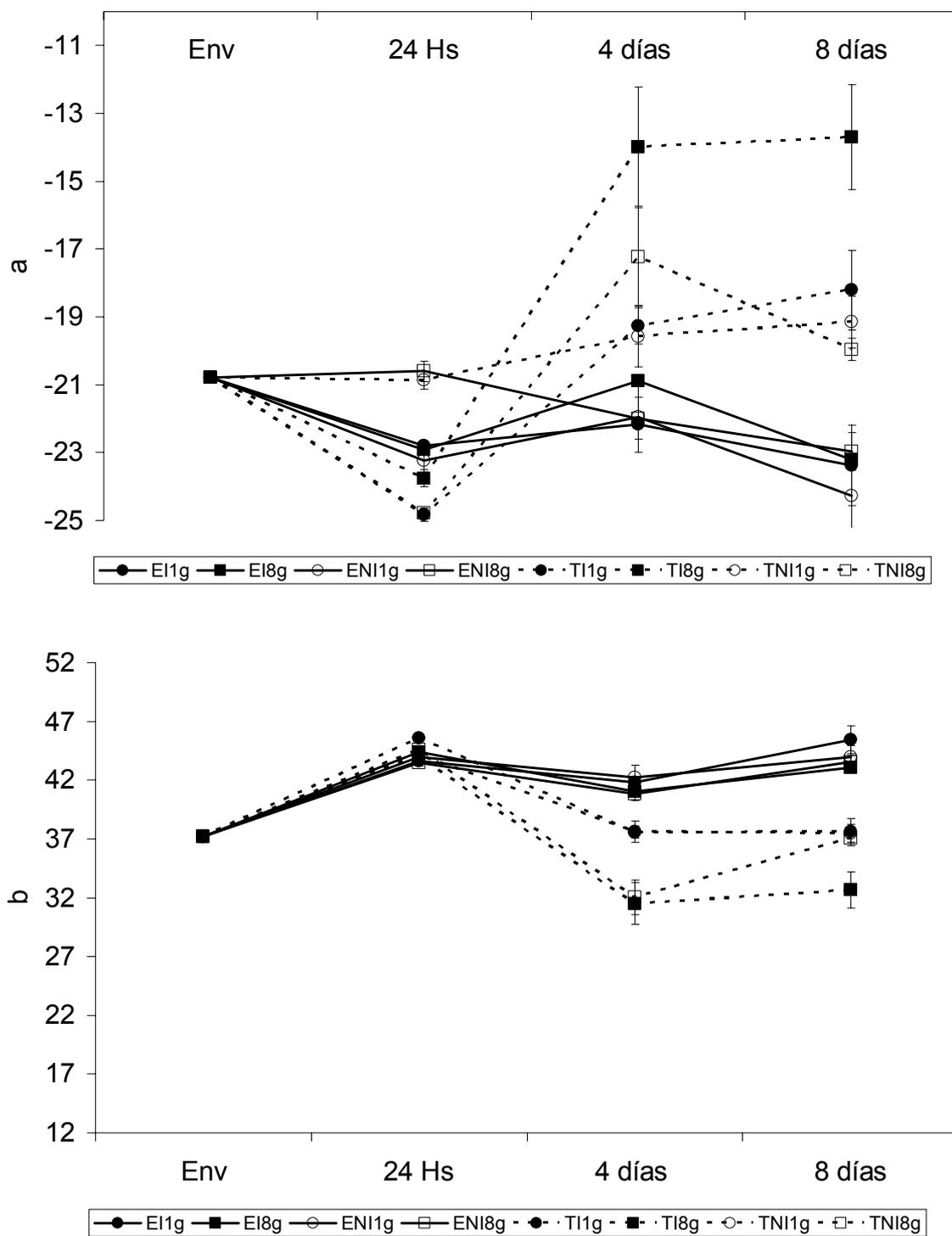
### Evolución de los parámetros L\*, a\* y b\*

El troceado de las hojas afectó significativamente los valores de los parámetros del color evaluados durante el almacenamiento, en cambio, la inmersión solamente afectó al parámetro L\*. El efecto de la temperatura se observó en los valores de a\* y b\*. La temperatura de almacenamiento de 8 °C produjo un aumento del valor de a\*, y un mayor descenso en el valor de b\* reflejado en una disminución en la coloración verde de las hojas. La retención del color de los productos mínimamente procesados es el principal factor sensorial considerado por los consumidores y uno de los que más limitan la vida poscosecha de los productos mínimamente procesados. Las responsables del color verde en las hojas son las clorofilas a y b (Watada y Qi, 1999).

El valor de a\* en hojas enteras descendió levemente durante el período de almacenamiento, mientras que en hojas trozadas dicho valor aumentó indicando una pérdida del color verde como consecuencia de una disminución en la concentración de clorofila (Fig. 1). En cuanto al valor del parámetro b\* en hojas trozadas se observó un descenso, en cambio en hojas enteras se incrementó durante el período de estudio. Esto significa que no ocurrieron cambios de color en el carácter amarillo de las hojas (Fig. 1).

En hojas trozadas, el valor inicial de L\* (62,23) disminuyó hasta el final del período de almacenamiento debido al oscurecimiento de las hojas. En cambio, en hojas enteras se observó un incremento en el valor de L\* (Fig. 1).

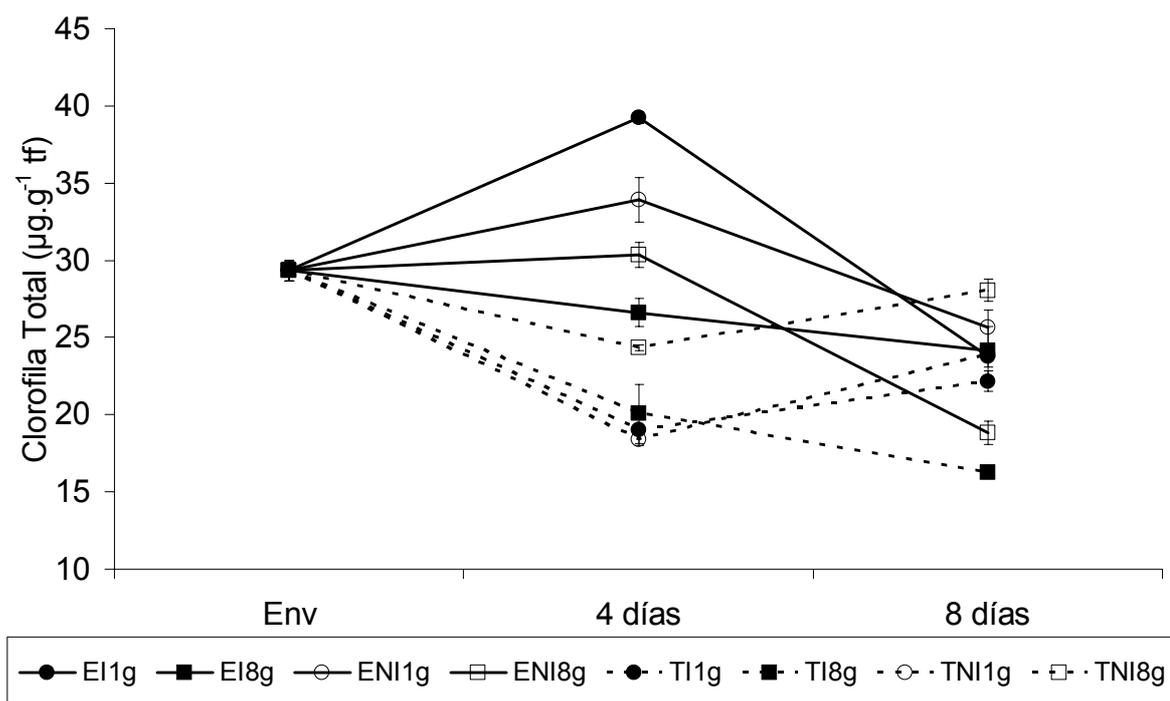


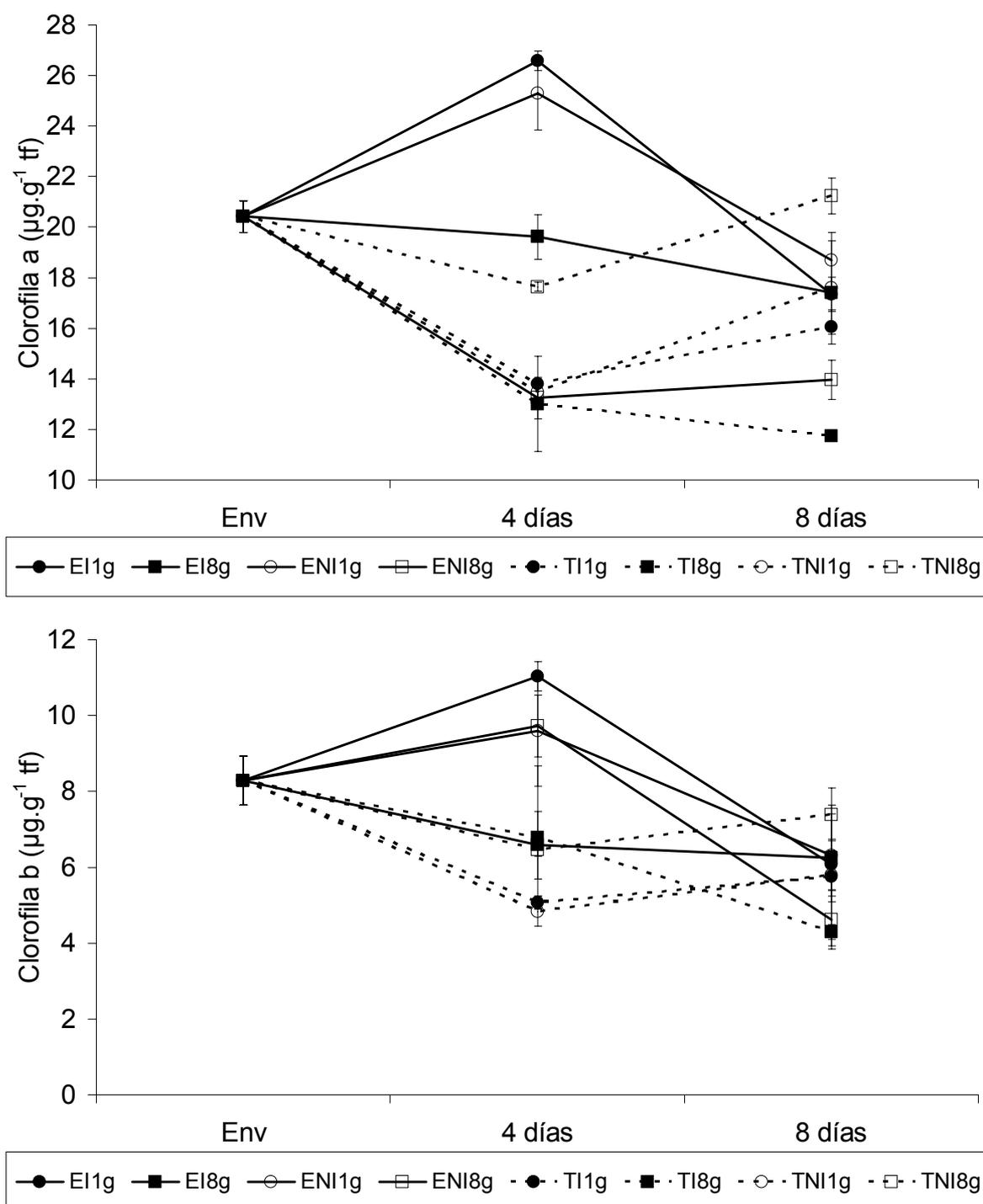


**Fig. 1** Evolución de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para hojas enteras (E) ó trozadas (T) de lechuga mantecosa mínimamente procesada e inmersas cloruro de calcio (I) o agua (NI) previo al almacenamiento 8 días a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  (1g) ó a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  (8g).

### Evolución de la concentración de clorofila total, a y b

Hacia el final del almacenamiento se observó un descenso en la concentración de clorofilas (total, a y b). Además, la inmersión en cloruro de calcio y el troceado de las hojas afectó significativamente ( $p < 0.05$ ) la concentración de clorofila total, a y b (Fig. 2). La disminución en la concentración de clorofilas concuerda con la pérdida de la pigmentación verde durante el almacenamiento que se observó en lechuga iceberg troceada y también en hojas de espinaca. La pérdida de clorofilas durante la senescencia de los tejidos verdes de los vegetales se debe a varios factores, entre ellos, la actividad de la clorofilasa, la magnesio desquelatasa, y el bajo pH dependiendo de los tejidos (Ihl et al, 2003).





**Fig. 2** Concentración de clorofila total, a y b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  tf) para hojas enteras (E) ó trozadas (T) de lechuga mantecosa mínimamente procesada e inmersas en cloruro de calcio (I) o agúa (NI) previo al almacenamiento durante 8 días a  $1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  (1g) ó a  $8 \pm 2^\circ\text{C}$  (8g).

Las concentraciones de clorofila a y clorofila total fue afectada significativamente por el troceado, la inmersión y por la temperatura de almacenamiento, en cambio, la concentración de clorofila b solamente por el troceado de las hojas.

Ihl et al. (2003) encontraron una disminución en la actividad clorofilasa cuando previo al envasado en atmósfera modificada pasiva, las hojas de lechuga de cabeza fueron inmersas en una solución con 1 g.L<sup>-1</sup> de cloruro de calcio, sin embargo en nuestro estudio las hojas trozadas de lechuga e inmersas en cloruro de calcio mostraron mayor descenso en la concentración de clorofilas.

## CONCLUSIONES

El troceado de las hojas previo al envasado produjo mayor descenso en la concentración de clorofilas desmereciendo la calidad del producto. La mayor pérdida de la coloración verde de las hojas también se observó con un aumento del valor de a\* y una disminución de los parámetros L\* y b\*.

La inmersión de las hojas en cloruro de calcio previo al envasado provocó un mayor descenso en la concentración de clorofila a y total, y además, un mayor valor de L\* durante el almacenamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Allende, A.; Aguayo, E. Artés F. Microbial and sensory quality of comercial fresh processed red lettuce throughout the production Caín and shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, v.91,p.109-117, 2004.
- Antoniolli, L.R.; Benedetti, B.C.; de Souza Filho M.d.M. Effect of calcium chloride on quality of fresh-cut Pérola pineapple. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v.38, n.9, p.1105-1110, 2003.
- Artés, F.; Conesa, M.A.; Hernández, S.; Gil, M.I. Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and Technology*, v.17, p.153-162, 1999.
- Bruinsma, J. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. *Photochem. Photobiol*, v. 2, p. 241-249, 1963.
- Francis, G.A.; Thomas, C.; O'Beirne, D. The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, v.34, p.1-22, 1999.
- Evans, N.H.; McAinsh, M.R.; Hetherington, AM. Calcium oscillations in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 4, p. 415-420, 2001.
- Frezza, D. (2006) Efecto de los factores precosecha sobre la calidad de lechuga mantecosa mínimamente procesada. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Cuyo. pp 53.
- García, J.M.; Salvador, H.; Morilla, A. Effect of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 44, p. 30-33, 2003.
- Ihl, M.; Aravena, L.; Scheuermann, E.; Uquiche, E.; Bifani, V. Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v. 36, p. 591-599, 2003.
- Joyce, D.C.; Shorter, A.J.; Hockings, P.D. Mango fruit calcium levels and the effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. *Scientia Horticulturae*, v. 91, p. 81-99, 2001.
- Ki-Young, C.; Yong-Beom, L. Effect of salinity of nutrient solution on growth, translocation and accumulation of <sup>45</sup>Ca in butterhead lettuce. *Acta Horticulturae*, v. 548, p.575-580, 2001.
- Lanciotti, R.; Gianotti, A.; Patrignani, F.; Belletti, N.; Guerzoni, M.E.; Gardini, M.E. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology*, v. 15, p. 201-208, 2004.
- Luna-Guzman, I.; Barret, D.M. Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh cut cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology*, v. 19, p. 61-72, 2000.

- Luna-Guzman, I.; Cantwell, M.; Barret, D.M. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl<sub>2</sub> dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology*, v. 17, p. 201-213, 1999.
- Piagentini, A.M.; Guemes, D.R. Shelf life of fresh-cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 19, p. 383-389, 2002.
- Picchioni, G.A.; Watada, A.E.; Whitaker, B.D.; Reyes, A. Calcium delays senescence related membrane lipid changes and increases net synthesis of membrane lipid components in shredded carrots. *Postharvest Biology and Technology*, v. 9, p. 235-245, 1996.
- Reddy, A.S.N. Calcium: silver bullet in signaling. *Plant Science*, v. 160, p. 381-404, 2001.
- Serrano, M.; Martinez-Romero, M.; Castillo, S.; Guillén, F.; Valero, D. Role of calcium and heat treatments in alleviating physiological changes induced by mechanical damages in plum. *Postharvest Biology and Technology*, v. 34, p. 155-167, 2004.
- Siomos, A.S.; Beis, G.; Papadopoulou, P.P.; Nasi, P.; Kaberidou, I.; Barbayiannis, N. 2001. Quality and composition of lettuce (cv. 'Plenty') grown in soil and soilless culture. *Acta Horticulturae*, v. 548, p. 445-449, 2001.
- Suutarinen, J.; Heiska, K.; Moss, P.; Autio, K. The effects of calcium chloride and sucrose prefreezing treatments on the structure of strawberry tissues. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, v. 33, p. 89-102, 2000.
- Thomidis, T. Effect of calcium, boron, zinc, magnesium, potassium and pre-storage water dip treatment on firmness of peaches. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 23, p. 185-187, 2003.
- Viña, S. Efecto del almacenamiento sobre la calidad de apio trozado. Aspectos químicos de los mecanismos de defensa. Tesis Doctoral. CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas. UNLP. 279 p, 2004.
- Watada, A.E.; Qi, L. Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, v. 15, p. 201-205, 1999.
- Whitaker, B.D.; Klein, J.D.; Conway, W.S.; Sams, C.E. Influence of prestorage heat and calcium treatments on lipid metabolism in 'Golden Delicious' apples. *Phytochemistry*, v. 45, p. 465-472, 1997.
- White, P.J. The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany* v. 52, p. 891-899, 2001.
- White, P.J.; Broadley, M.R. Calcium in plants. *Annals of Botany*, v. 92, p. 487-511, 2003.