

(S5-P168)

ACTIVIDAD RESPIRATORIA DE HOJAS DE ESPINACA BAJO ATMÓSFERAS MODIFICADAS INNOVADORAS

ANA MARIA DE MAGALHÃES, VICTOR HUGO ESCALONA y FRANCISCO
ARTÉS

Grupo de Postrecolección y Refrigeración, Departamento de Ingeniería de Alimentos y del
Equipamiento Agrícola, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48. 30203
Cartagena, Murcia, España, e-mail: victor.escalona@upct.es,
tel: 34-968-325921, fax: 34-968-325433.

Palabras clave: *Spinacia oleracea* - productos mínimamente procesados en fresco - alto O₂ - gases nobles - actividad metabólica.

RESUMEN

Se estudió el efecto de concentraciones ricas en O₂ y de los gases nobles helio (He) y argón (Ar) sobre la respiración de las hojas de espinaca (*Spinacia oleracea* L., cv. Dolphy) mínimamente procesadas en fresco (MPF). Las hojas se seleccionaron en una cámara limpia a 12°C, eliminándose las hojas con tamaño excesivamente grande y pequeño y las dañadas. Posteriormente, se lavaron con agua potable a 5°C durante 1 min y se dispusieron en frascos de cristal de cierre hermético, conservándose a 15°C bajo las siguientes mezclas gaseosas: 0, 25, 50, 75 y 100 kPa O₂ (resto N₂); 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar y 25 kPa O₂ + 75 kPa He. La tasa respiratoria se determinó como producción de CO₂ (RCO₂) y/o consumo de O₂ (RO₂), siendo medida hasta agotar el O₂ y alcanzar la anaerobiosis (0 kPa O₂). Las hojas conservadas bajo 25 a 100 kPa O₂ y N₂ alcanzaron la anaerobiosis tras 3, 6, 9 y 12 días, respectivamente. La RCO₂ no varió con el aumento de la concentración de O₂ desde 25 hasta 100 kPa. La RCO₂ disminuyó con el tiempo de conservación: durante las primeras 14 h fue de unos 80 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y posteriormente, en anaerobiosis, se redujo hasta 20 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Los valores más bajos de RCO₂ se alcanzaron bajo 0 kPa O₂ variando desde 40 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ tras 14 h, hasta 14 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ tras 48 h. En atmósferas de 25 kPa O₂ + 75 kPa (N₂, Ar o He), la RCO₂ inicial fue de 75 a 80 mL kg⁻¹ h⁻¹. Por su parte, la RO₂ aumentó con el incremento de O₂ a partir de 50 kPa. En 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂ y He la RO₂ inicial fue de 75 mL kg⁻¹ h⁻¹ y en 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar de 78 mL kg⁻¹ h⁻¹. El cociente respiratorio (RCO₂/RO₂ o CR) disminuyó con el tiempo de conservación en atmósferas con alto O₂ (≥ 50 kPa). Los CR iniciales fueron de 0,9 y, tras alcanzar la anaerobiosis, descendieron hasta 0,5. Sin embargo, el CR medio de las hojas conservadas en 25 kPa O₂ (resto N₂, Ar o He) fue 0,95, 0,75 y 0,85, respectivamente. Como conclusión, las hojas de espinaca conservadas a 15°C en atmósfera modificada con altos niveles de O₂ iniciales, preservaron su calidad con un retraso de la respiración anaeróbica. Esta temperatura se llega ocasionalmente a alcanzar al comercializar ésta hortaliza que resulta muy negativa para prolongar su calidad y vida útil. Con 75 kPa He o Ar combinados con 25 kPa O₂ se redujo la RCO₂ de las hojas de espinaca comparada con 75 kPa N₂. Por tanto, el He y el Ar podrían ser una alternativa innovadora de envasado activo a las atmósferas convencionales que emplean N₂ como gas inerte.

RESPIRATORY ACTIVITY OF SPINACH LEAVES STORED IN INNOVATIVE MODIFIED ATMOSPHERE

Keywords: *Spinacia oleracea* – fresh-cut - high O₂ – noble gas – metabolic activity.

ABSTRACT

The effect of high O₂ concentration and noble gas as helium (He) and argon (Ar) on the respiratory activity of fresh-cut spinach leaves (*Spinacia oleracea* L., cv. Dolphy) were studied. Intact spinach leaves with a uniform size were selected in a clean room at 12°C. The leaves were dipped in tap water at 5°C for 1 min. The leaves were placed in crystal jars hermetically closed and stored at 15°C under initial atmosphere conditions of: 0, 25, 50, 75 and 100 kPa O₂ (with N₂); 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar and 25 kPa O₂ + 75 kPa He. Respiratory activity (RR) was expressed as production of CO₂ (RCO₂) and/or consumption of O₂ (RO₂). RR was monitored until O₂ concentration was completely consumed inside the jars and anaerobic condition was reached (0 kPa O₂). The spinach leaves stored from 25 to 100 kPa O₂ with N₂ reached anaerobic conditions after 3, 6, 9 and 12 days, respectively. RCO₂ showed no changes when O₂ concentration was increased from 25 to 100 kPa. Under these treatments RCO₂ decreased throughout storage. RCO₂ was 80 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ after first 14 h. However, RCO₂ decreased until 20 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ in anaerobic conditions. The lowest RCO₂ were reached in 0 kPa O₂ (initial) after 14 h (40 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) and 48 h (14 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹). Under 25 kPa O₂ + 75 kPa (N₂, Ar or He), an initial RCO₂ of 75 to 80 mL kg⁻¹ h⁻¹ was found. RO₂ increased when O₂ concentration was also increased (≥ 50 kPa). Under 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂ and He, the initial RO₂ was of 75 mL kg⁻¹ h⁻¹ and in 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar of 78 mL kg⁻¹ h⁻¹. Respiratory quotient (RCO₂/RO₂ or RQ) decreased throughout storage in high O₂ concentration (≥ 50 kPa). The initial RQ was 0.9 decreasing to 0.5 in anaerobic condition. Nevertheless, RQ of spinach leaves stored in 25 kPa O₂ (with N₂, Ar or He) was 0.95, 0.75 and 0.85, respectively. It was concluded that spinach leaves could be stored in modified atmosphere packaging (MAP) with high O₂ concentration. Under these concentrations, anaerobic respiration would be delayed and fresh quality of spinach leaves kept longer at 15°C. A temperature of 15°C is considered moderately high for optimal storage conditions of spinach leaves, but it normally used during the distribution and commercialization of spinach. The high noble gases concentrations (75 kPa He or Ar) with 25 kPa O₂ decreased RCO₂ of spinach leaves compared with 75 kPa N₂. Therefore, He and Ar can be used an innovative alternative of active packaging to conventional modified atmosphere with N₂ as inert gas.

INTRODUCCIÓN

En general, la vida poscosecha de las frutas y hortalizas varía inversamente con respecto a la magnitud de su tasa respiratoria (TR). Esta relación inversa se establece porque en la respiración aeróbica los compuestos de reserva se descomponen en moléculas simples produciéndose CO₂, vapor de agua y energía. El contenido y tipo de carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos están directamente relacionados con los parámetros de calidad tales como firmeza, dulzor, acidez, aroma, etc. (Kader y Saltveit, 2003). Las frutas y hortalizas con alta TR tienen una vida poscosecha más corta que aquellas con una baja TR (Kader y Saltveit, 2003). Para prolongar la vida poscosecha de los productos frescos, éstos deben poseer al inicio de la conservación una alta calidad global. En la actualidad se utilizan técnicas que frenan el metabolismo de las frutas y hortalizas como la refrigeración con elevada humedad relativa y el control de la composición de la atmósfera alrededor del producto, mediante la eliminación o adición de O₂, CO₂ y N₂. En la actualidad se están estudiando nuevas

alternativas mediante gases nobles (Ar y He) que sustituyan al N₂ y/o atmósferas con elevados niveles de O₂, superiores a 70 kPa (Artés, 2006).

Elevadas concentraciones de O₂ generadas con envasado en atmósfera modificada (EAM) redujeron el crecimiento microbiano y mantuvieron la calidad sensorial de algunas hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF) según Allende et al. (2004). Estos altos niveles de O₂ reducen la TR (Escalona et al., 2006; Srilaong y Tatsumi, 2003) y prolongan la vida poscosecha de los productos frescos (Amanatidou et al., 2000). Para Day (2001) las atmósferas sobreoxigenadas inhibieron el pardeamiento enzimático, la fermentación anaeróbica y la presencia de malos olores y el crecimiento microbiano aerobio y anaerobio. El Ar en atmósferas modificadas redujo el crecimiento microbiano y mantuvo la calidad de productos hortícolas (Day, 1996). El uso de He en reemplazo del N₂ en aire cambió la tasa de difusión y redujo el gradiente de concentración de O₂ entre el interior y el exterior del producto vegetal. Por tanto, las atmósferas con He permitirían la conservación de productos que bajo atmósferas pobres en O₂ (más N₂) poseen bajas concentraciones de O₂ interno. Los gases N₂, Ar y He son químicamente inertes. Ar y He son monoatómicos y más pequeños que N₂, por ser diatómico. Jaime y Saltveit (2002) utilizaron 90 kPa Ar y 2 kPa O₂ para conservar lechuga y brócoli MPF conservados a 7 y 15°C respectivamente, pero no retardó la acumulación de fenoles en lechuga y la pérdida de clorofila en brócoli.

La espinaca alcanzó una producción en España de 45000 t en 2005 (FAOSTAT, 2007), de las cuales 1400 t se cosecharon en la Región de Murcia (Consejería de Agricultura y Agua, 2007). La espinaca posee una elevada TR a bajas temperaturas (> 20 mg kg⁻¹ h⁻¹, a 5°C) lo que reduce su vida comercial (Kader y Saltveit, 2003). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de O₂ (baja, moderada y alta) y del empleo de Ar y He como alternativa al N₂ en el EAM sobre la TR de hojas de espinaca MPF.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y preparación de la experiencia

Se utilizaron hojas de espinaca (*Spinacia oleracea* L., cv. Dolphy) cosechadas en diciembre en una explotación comercial del Campo de Cartagena, Murcia (España). Las hojas se transportaron al laboratorio (45 km), donde se almacenaron en una cámara a 7°C hasta el día siguiente. A primera hora de la mañana, las hojas se seleccionaron con un tamaño medio de 10 cm eliminándose las dañadas y con coloración anormal. Las hojas se lavaron durante 1 min por inmersión en agua potable a 5°C y se centrifugaron con una centrifuga manual.

Muestras de 150 g de hojas se colocaron dentro de frascos de cristal de 2 L y mediante un mezclador de gases se inyectaron las siguientes combinaciones gaseosas iniciales: 0, 25, 50, 75 y 100 kPa O₂ (resto N₂); 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar; y 25 kPa O₂ + 75 kPa He. Los frascos se cerraron herméticamente y se mantuvieron a 15°C hasta alcanzar la anaerobiosis (0 kPa O₂). Se emplearon 3 repeticiones (frascos) por cada mezcla gaseosa.

Medición de la actividad respiratoria

La composición gaseosa dentro de los frascos se determinó analizando una muestra de 0,5 mL en un cromatógrafo de gases (Thermo Finnigan Trace GC 2000, Rodano, Milan, Italia), provisto con un detector de conductividad térmica y una columna Porapack N 80/100 (EEUU) a 40°C. Se utilizó He como gas portador. La mezcla 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar se analizó con un analizador de gases (PBI Dansensor). Se realizaron determinaciones periódicas hasta alcanzar la anaerobiosis dentro de los frascos. La producción de CO₂ (RCO₂) y el consumo de O₂ (RO₂) se expresaron en mL por kg producto fresco y por h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo elevadas concentraciones de O₂ se prolongó la vida útil de las hojas de espinaca. La anaerobiosis bajo 25, 50, 75 y 100 kPa O₂ (inicial, resto N₂) se alcanzó tras 3, 6, 9 y 12 días, respectivamente.

La RCO₂ no varió con el aumento en la concentración de O₂ en el rango de 25 a 100 kPa (inicial). La RCO₂ inicial fue de unos 80 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ disminuyendo a 20 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ cuando se alcanzó la anaerobiosis (Figura 1). La RCO₂ tuvo valores más bajos en 0 kPa O₂ (inicial). En este tratamiento se obtuvo 40 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ tras 5 h y 14 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ tras 48 h (Figura 1).

Bajo 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂ se obtuvieron valores de RCO₂ iniciales de 80 mL kg⁻¹ h⁻¹, ligeramente más altos que en las hojas conservadas bajo 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar o He con valores de 77 y 75 mL kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Al final de la experiencia (en anaerobiosis) los valores fueron cercanos a 20 mL kg⁻¹ h⁻¹ para 75 kPa N₂, Ar o He (Figura 2).

Inicialmente la RO₂ fue semejante para hojas de espinaca conservadas bajo 50, 75 y 100 kPa O₂ (resto N₂), con valores de 85 a 95 mL kg⁻¹ h⁻¹. Durante la conservación, RO₂ disminuyó en todos los tratamientos. Los valores RO₂ más altos se obtuvieron bajo atmósferas ricas en O₂ (Figura 1). En la Figura 2 se observa que bajo 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂, He y Ar los valores iniciales de RO₂ fueron semejantes y cercanos a 75 mL kg⁻¹ h⁻¹.

A 15°C, el cociente respiratorio (RCO₂/RO₂ o CR) en atmósferas con alto O₂ inicial (≥ 50 kPa) fue de 0,9, ligeramente inferior al alcanzando bajo atmósferas con 25 kPa O₂ (resto N₂, Ar y He) con valores de 1 (Figuras 3 y 4). En estas atmósferas los valores del CR, una vez alcanzada la anaerobiosis, fueron de 0,9 bajo N₂ y Ar y de 0,8 bajo He.

Bajo atmósferas muy ricas en O₂ se obtuvo una elevada TR, siendo los valores iniciales de RCO₂ de 80 mL kg⁻¹ h⁻¹ y los de RO₂ de 85 a 95 mL kg⁻¹ h⁻¹. Allende et al. (2004) reportaron valores de RCO₂ de 12,5 a 17 mL kg⁻¹ h⁻¹ para espinaca MPF conservada en aire a 5°C. Anteriormente Watada et al. (1996) obtuvieron valores de RCO₂ en espinaca MPF conservada en aire y a 5°C de 11,3 mL kg⁻¹ h⁻¹. Estos mismos autores registraron valores de RO₂ de 12,8 mL kg⁻¹ h⁻¹. En lechuga MPF conservada a 9°C bajo atmósferas con niveles iguales o superiores a 50 kPa se obtuvieron 9,5 a 12,5 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y 10,5 a 13,5 mL O₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Escalona et al., 2006).

Las hojas de espinaca se conservaron durante más de 6 días (150 h) a 15°C con una apariencia fresca aceptable (datos no mostrados) respecto a los 2 días alcanzados bajo 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂. Por tanto, a pesar de que la temperatura empleada fue muy alta respecto a los 0 a 4°C recomendados por Artés (2006) para asegurar su calidad óptima, las atmósferas muy ricas en O₂ prolongaron la frescura de las hojas de espinaca. Por tanto, el uso de altas concentraciones de O₂ podría ser una alternativa al EAM convencional.

Las hojas de espinaca no presentaron variaciones de RCO₂ a medida que la concentración de O₂ aumentó de 25 a 100 kPa. Resultados similares fueron encontrados en lechugas MPF, apio y achicoria conservadas en rangos similares de O₂ (Escalona et al., 2006; Jacxsens et al., 2001). Según Escalona et al. (2006), la concentración de CO₂ afectó la TR de lechugas MPF a diferentes concentraciones de O₂. Estos mismos autores encontraron que una concentración de 10 kPa CO₂ redujo la TR de lechuga MPF y cuando ésta aumentó a 20 kPa la TR también se incrementó, probablemente porque concentraciones de 20 kPa CO₂ afectarían el metabolismo de la lechuga. En espinaca MPF la TR disminuyó en 2 a 3 veces tras un aumento de la concentración de CO₂ de 0 a 20 kPa.

Por otra parte, las hortalizas MPF presentan diferentes sensibilidades a las elevadas concentraciones de O₂ (Jacxsens et al., 2001). Según estos autores, a 4°C el apio rallado y la achicoria tuvieron menor sensibilidad que las rodajas de setas. Es decir, en atmósfera controlada con 3, 80 y 95 kPa O₂, el apio rallado tuvo 7,43; 8,76 y 10,86 mL O₂ kg⁻¹ s⁻¹, respectivamente, mientras que la achicoria obtuvo 9,84; 7,95 y 10,18 mL O₂ kg⁻¹ s⁻¹. Bajo

iguales condiciones de conservación las rodajas de setas registraron 14,68; 36,29 y 41,69 mL O₂ kg⁻¹ s⁻¹. En zanahoria MPF conservada bajo 50 kPa O₂ y 30 kPa CO₂ se observó una intensificación de la producción de etileno tras 2 ó 3 días a 8 °C (Amanatidou et al. 2000).

El CR inicial de las espinacas fue de 0,8 a 1,05 coincidiendo con el valor de 0.9 obtenido por Watada et al. (1996) para espinacas conservadas a 5°C en aire. Escalona et al. (2006), encontraron valores del CR cercanos a la unidad en lechuga MPF a 9°C. Estos autores no observaron un efecto del incremento en la concentración de O₂ de 20 a 100kPa sobre el CR de lechugas.

CONCLUSIONES

Las hojas de espinaca podrían ser conservadas bajo atmósfera ricas en O₂, retrasando así la anaerobiosis bajo EAM convencional con bajas concentraciones de O₂.

El empleo de atmósferas con 75 kPa He o Ar redujo la RCO₂ de las hojas de espinaca en comparación con aquellas conservadas bajo 75 kPa N₂. Por tanto, el He y el Ar pueden ser una alternativa innovadora para la técnica de EAM activa.

AGRADECIMENTOS

Los autores agradecen al Banco Santander/Banespa Brasil por la beca de movilidad internacional concedida a la Ing. Ana María Magalhães y al Proyecto AGL2005-08189-C02-01/ALI del Ministerio de Educación y Ciencia de España por la financiación de las experiencias. Además los autores desean agradecer a Kernel Export (Murcia – España) por suministrar las hojas de espinaca empleadas en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Allende, A., Luo, Y., McEvoy, J.L. Artés, F. Wang, C.Y., 2004. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 33, 51–59.
- Amanatidou, A., Slump, R.A., Gorris, L.G.M., Smid, E.J., 2000. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *J. Food Sci.* 65, 61-66.
- Artés, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha.* 7(2):61-85.
- Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, 2007. Estadísticas agrarias. Acceso electrónico: <http://www.carm.es>
- Day, B. 1996. High oxygen modified atmosphere packaging for fresh prepared produce. *Postharvest News Information* 7, 31–34.
- Day B. 2001. Fresh prepared produce: GMP for high oxygen MAP and non-sulphite dipping. Guideline N° 31. Chipping Campden: Campden and chorleywood food research association group, 1-76.
- Escalona, V.H., Verlinden, B.E, Geysen, S., Nicolaï, B.M., 2006. Changes in respiration of fresh-cut butterhead lettuce under controlled atmospheres using low and superatmospheric oxygen conditions with different carbon dioxide levels. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 48-55.
- FAOSTAT. 2007. Acceso electrónico: <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>

- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Steen, C.V.der, Debevere, J., 2001. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *Inter. J. Food Microbiol.* 71, 197-210.
- Jaime, P., Saltveit, M.E. 2002. Postharvest changes in broccoli and lettuce during storage in argon, helium, and nitrogen atmospheres containing 2% oxygen. *Postharvest Biol. Technol.* 26,113–116.
- Kader, A.; Saltveit, M.E. 2003. Respiration and gas exchange. In: Bartz, J.A. and Brecht, J.K. (eds). *Postharvest physiology and pathology of vegetables*. Marcel Dekker, New York, 7-29.
- Saltveit, M.E. 1993. Effect of high-pressure gas atmospheres and anesthetics on chilling injury of plants. *J. Expt. Bot.* 44, 1361–1368.
- Srilaong, V., Tatsumi, Y. 2003. Oxygen action on respiratory processes in cucumber fruit (*Cucumis sativus*) stored at low temperature. *J. Hort. Sci. & Biotechnol.* 78, 629-633.
- Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biol. Technol.* 9, 115-125.

FIGURAS

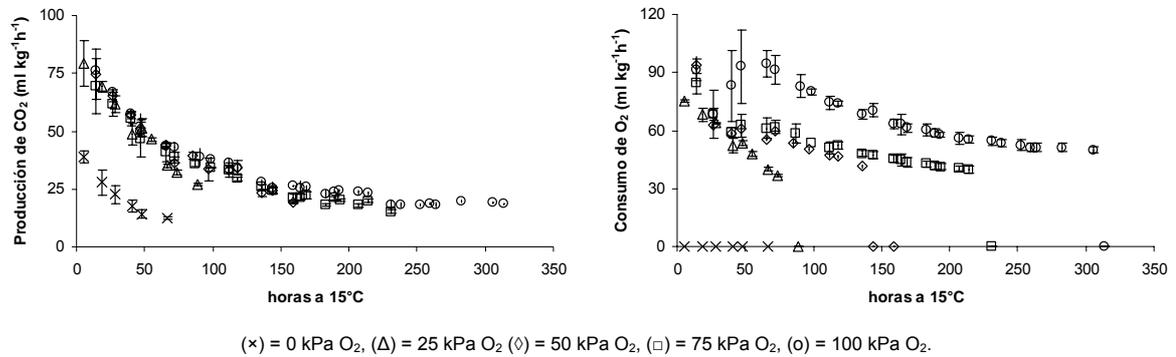


Figura 1. Actividad respiratoria de hojas de espinaca, conservadas a 15°C bajo atmósferas de 0 a 100kPa de O₂ (resto N₂), expresada en producción de CO₂ y consumo de O₂.

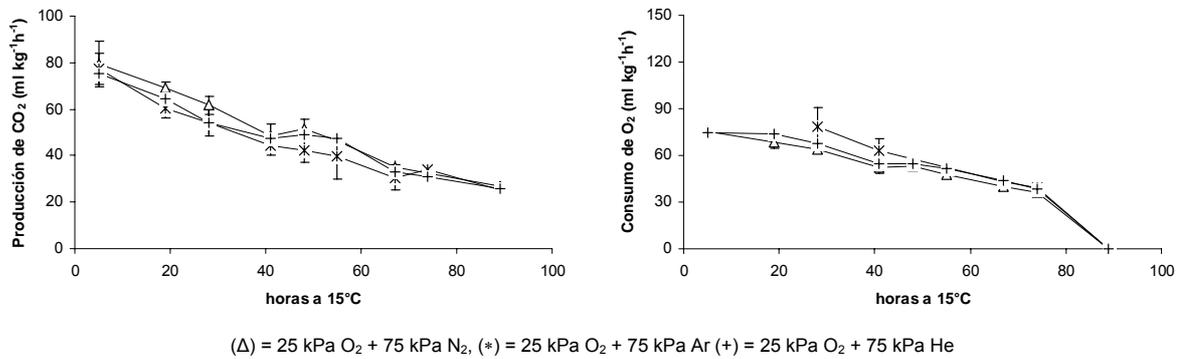


Figura 2. Actividad respiratoria de hojas de espinaca, conservadas a 15°C bajo 25kPa O₂ + 75kPa de N₂, Ar o He, expresada en producción de CO₂ y consumo de O₂.

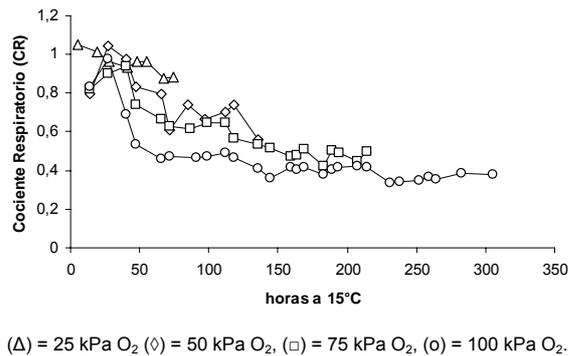
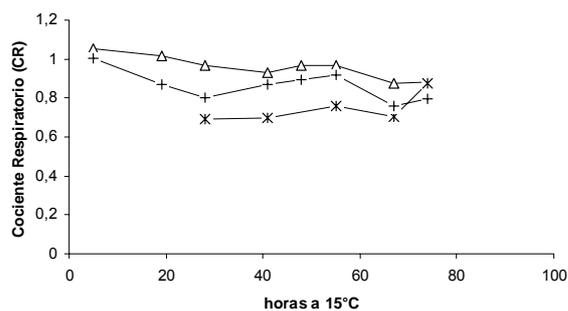


Figura 3. Cociente respiratorio de hojas de espinaca conservadas a 15°C bajo atmósferas de 0 a 100kPa de O₂ (resto N₂).



(Δ) = 25 kPa O₂ + 75 kPa N₂, (*) = 25 kPa O₂ + 75 kPa Ar (+) = 25 kPa O₂ + 75 kPa He

Figura 4. Cociente respiratorio de hojas de espinaca conservadas a 15°C bajo 25kPa O₂ + 75kPa de N₂, Ar o He.