

(S5-P171)

MODELIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD RESPIRATORIA EN PIMIENTO MÍNIMAMENTE PROCESADO EN FRESCO

ANDRÉS CONESA^a, FRANCISCO ARTÉS-HERNÁNDEZ^{a*}, BERT VERLINDEN^b,
BART NICOLAI^b y FRANCISCO ARTÉS^a

^a Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Dep. Ingeniería de Alimentos y del Equip. Agrícola.
Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203

Cartagena, Murcia, España. Tel: +34 968 325509. E-mail: fr.artes-hdez@upct.es

^b Flanders Center/Laboratory of Postharvest Technology, Catholic University of Leuven, Willem de
Croylaan 42, 3001 Leuven, Belgica

Tel: +32 16 322375 E-mail: bart.nicolai@biw.kuleuven.be

Palabras clave: *Capsicum annuum*, cuarta gama, atmósfera controlada y modificada convencional y emergente, anaerobiosis.

RESUMEN

Para describir la actividad respiratoria del pimiento mínimamente procesado en fresco (MPF) bajo distintas concentraciones gaseosas convencionales y de empleo emergente (alto y bajo O₂ y CO₂) y diversas temperaturas, se ha elaborado un modelo basado en la ecuación cinética de Michaëlis-Menten. Para describir la dependencia entre la temperatura y los parámetros del modelo de Michaëlis-Menten, se ha incluido la ecuación de Arrhenius. Al modelizar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa respiratoria, se han evaluado distintos tipos de efectos. Se ha comprobado que el modelo se ajusta bastante bien a nuestros datos experimentales. Entre las principales conclusiones obtenidas para el pimiento MPF destaca que el efecto del CO₂ queda descrito a través del modelo de inhibición competitiva, siendo éste bastante menor que el ocasionado por la temperatura. En el rango de 20-100 kPa O₂ no se observan diferencias significativas en la actividad respiratoria. A 20 kPa CO₂ se produjo un aumento significativo de la tasa respiratoria. Por debajo de 9 kPa O₂, la tasa respiratoria disminuyó significativamente y por debajo de 3 kPa O₂, el pimiento MPF entró en anaerobiosis.

INTRODUCCIÓN

El mantenimiento de la calidad de un producto mínimamente procesado en fresco (MPF), depende de varios factores entre los que destacan las condiciones higiénicas de procesado y del producto, el mantenimiento de la cadena del frío (Bolin y Huxsoll, 1989; Watada *et al.*, 1996) y un apropiado diseño del envasado en atmósfera modificada (EAM) (Hertog *et al.*, 1998, Cameron *et al.*, 1995; Artés, 2000; Kader, 2002; Artés-hernández y Artés, 2005). Para un adecuado diseño del EAM resulta muy conveniente lograr un modelo matemático para prever la evolución de la atmósfera que tenga en cuenta la temperatura y las concentraciones de O₂ y CO₂. Por ello el objetivo de este trabajo es predecir la actividad respiratoria del pimiento “meteor” MPF en función de la temperatura, el CO₂, y bajas y altas concentraciones de O₂. Se ha recurrido a la ecuación de Michaëlis-Menten para describir dicho comportamiento respiratorio porque dicha ecuación se ajusta bien a los datos experimentales obtenidos para las actividades respiratorias de numerosos productos hortofrutícolas (Peppelenbos y van ‘t leven, 1996; Fonseca *et al.*, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la materia prima

El material vegetal empleado fue pimiento tipo California (*Capsicum annum*, cv. "Meteor"), de color verde, cultivado en invernadero (Mechelen, Bélgica). Tras la recolección, los pimientos ($\text{Ph} = 5,5 \pm 0,5$; $\text{SST} = 4,8 \pm 0,3$ °B; $\text{AT} = 0,09 \pm 0,01$ g ácido cítrico 100 ml⁻¹) se transportaron 40 km al laboratorio de la Universidad Católica de Leuven donde se almacenaron a 5°C, hasta la mañana siguiente, cuando se procesaron. El procesado mínimo se realizó en una cámara a 7°C, previamente desinfectada. Tras seleccionar los frutos sanos, se procesaron en dados de unos 2-3 cm de lado, que se lavaron durante 1 min con agua de la red a 4-5°C. A continuación se rscurrieron en una centrífuga manual, eliminando el agua superficial restante mediante papel absorbente. En frascos herméticos de vidrio de 1,7 l, se dispusieron unos 400 g de pimiento cortado por frasco. A través de los frascos se hizo pasar un flujo de 20-40 ml min⁻¹ de distintas mezclas gaseosas humidificadas, preparadas con un panel mezclador automatizado (modelo 5850s, Brooks Instrument, Holanda), equipado con caudalímetros y controlado por ordenador.

Se realizaron dos experimentos por separado. En el primero, los dados se conservaron 3 días a las temperaturas de 2, 7 y 14°C, en combinación con las siguientes mezclas gaseosas (kPa O₂/kPa CO₂/kPa N₂): 100/0/0; 80/20/0, 60/0/40, 50/20/30, 20/20/60 y 20/0/80 (como testigo por ser prácticamente aire). En el segundo experimento, se ensayaron las mismas temperaturas y siete mezclas gaseosas: 0/0/100; 0,5/0/99,5; 1/0/99; 3/0/97; 9/0/91; 0/20/80 y 20/0/80.

Determinación de la actividad respiratoria

Después de fluir las distintas mezclas durante una noche, se cerraron los botes y se determinó la composición del espacio de cabeza (O₂, CO₂ y N₂) con un cromatógrafo de gases (Chrompack CP 2002, Holanda), equipado con horno (70-80°C), inyector (70°C), una columna empaquetada (Porapak-n 80/100, USA) y un tamiz molecular (CP molsieve 5a, USA), usando he como gas portador (5,5-6 bar). Después de 2-4 horas, el espacio de cabeza fue nuevamente analizado.

La tr se determinó durante tres días consecutivos. Los resultados obtenidos se usaron para calcular las tasas de consumo de O₂ y de producción de CO₂, y se expresaron como nmol kg⁻¹ s⁻¹.

Análisis estadísticos.

Se estudió la bondad del ajuste del modelo a través del error cuadrático medio (ECM) y el coeficiente de ajuste determinado (R²adj)

Modelo

Existen ciertas limitaciones para establecer cualquier modelo predictivo. En este caso los errores experimentales y el tiempo consumido en la determinación de la actividad respiratoria, así como la complejidad bioquímica de este proceso, constituyen limitantes a la hora de establecer cualquier modelo predictivo (Fonseca *et al.*, 2002). Para describir la actividad respiratoria del pimiento MPF bajo distintas concentraciones gaseosas y temperaturas, se ha elaborado un modelo basado en la ecuación cinética de Michaëlis-Menten. Aunque pueda tratarse de una simplificación, basada en una reacción enzimática, la relación se ha ajustado bastante bien a los datos de actividad respiratoria de numerosas frutas y hortalizas (Peppelenbos y van 't Leven, 1996; Fonseca *et al.*, 2002). A continuación se describen las ecuaciones del modelo de Michaëlis-Menten:

$$RO_2 = \frac{VmO_2 * O_2}{(Km + O_2)} \quad (1)$$

donde

- RO₂: tasa de consumo de O₂ (nmol kg⁻¹ s⁻¹).
- Km: constante de Michaëlis-Menten para el consumo de O₂ y uno de los parámetros del modelo.
- VmO₂: tasa máxima de consumo de O₂ (nmol kg⁻¹ s⁻¹), depende de la ecuación (3).
- O₂: concentración de O₂ (kPa).

$$RCO_2 = CR * RO_2 + \left(\frac{VmCO_2}{1 + O_2 / KmO_2f} \right) \quad (2)$$

donde,

- RCO₂: tasa de producción de CO₂ (nmol kg⁻¹ s⁻¹).
- CR: coeficiente respiratorio (RCO₂/RO₂).
- VmCO₂: tasa máxima de producción de CO₂ (nmol kg⁻¹ s⁻¹), depende de la ecuación (3).
- KmO₂f: parámetro que describe la inhibición del metabolismo fermentativo por parte del O₂.

Para describir la dependencia entre la temperatura y los parámetros VmCO₂ y VmO₂, se recurre a la ecuación de Arrhenius:

$$V_{m,i} = V_{m,i,ref} \exp\left(\frac{-Ea_{Vm,i}}{R_{gas}} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right), \text{ siendo } i=O_2 \text{ ó } CO_2 \quad (3)$$

donde,

- Vm_i: tasa máxima de de respiración, ya sea de O₂ (consumo) o de CO₂ (emisión)
- Vm_{i,ref}: tasa máxima específica de referencia de O₂ o de CO₂
- Tref: temperatura de referencia que ha sido fijada en este caso en 280 K (7°C)
- T: temperatura (K)
- Eavmi: energía de activación (kJ mol⁻¹)
- Rgas: es la constante de los gases ideales y su valor es 8,314 (J mol⁻¹ k⁻¹)

Para modelizar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la actividad respiratoria, se han evaluado 4 modelos de inhibición: competitivo (ecuación 4), incompetitivo (ecuación 5), mixto (ecuación 6) y no competitivo (ecuación 7)

$$RO_2 = \frac{VmO_2 * O_2}{(KmO_2 * (1 + CO_2 / KmcCO_2) + O_2)} \quad (4)$$

donde

- KmcCO₂: constante de Michaëlis-Menten para la inhibición competitiva de CO₂

$$RO_2 = \frac{VmO_2 * O_2}{(KmO_2 + (1 + CO_2 / KmuCO_2) + O_2)} \quad (5)$$

donde

- K_{muCO_2} : constante de Michaelis-Menten para la inhibición acompetitiva de CO_2

$$RO_2 = \frac{V_{mO_2} * O_2}{(K_{mO_2} * (1 + CO_2 / K_{mcCO_2}) + O_2 * (1 + CO_2 / K_{muCO_2}))} \quad (6)$$

donde

- K_{muCO_2} : constante de Michaelis-Menten para la inhibición mixta de CO_2

$$RO_2 = \frac{V_{mO_2} * O_2}{(K_{mO_2} + O_2) * (1 + CO_2 / K_{mnCO_2})} \quad (7)$$

donde

- K_{mnCO_2} : constante de Michaelis-Menten para la inhibición no competitiva de CO_2

Los distintos tipos de inhibición fueron comparados mediante el ajuste de mínimos cuadrados (R^2) y mediante el error cuadrático de la media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros estimados para el modelo se presentan en la Tabla 1. Para cada modelo (competitivo, acompetitivo, mixto y no competitivo) se establecen los parámetros.

Tabla 1. Estimación de parámetros \pm ES, según el modelo de Michaelis-Menten incluido el efecto inhibitor del CO_2 según 4 tipos. El efecto de la temperatura se incluye a través de la ecuación de Arrhenius.

Parámetro	competitivo	Acompetitivo	Mixto	No competitivo
V_{mO_2ref}	$72 \pm 6,5$	78 ± 11	72 ± 5	78 ± 11
E_{avmO_2}	$68,4 \pm 8,5$	$68,2 \pm 12,1$	$68,3 \pm 8,7$	$68,3 \pm 12,2$
K_{mO_2}	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,1$	2 ± 1
V_{mCO_2ref}	26 ± 15	51 ± 25	26 ± 15	51 ± 25
E_{avmCO_2}	$82,2 \pm 6,2$	$66,2 \pm 48$	$81,7 \pm 61,5$	$65,9 \pm 50,2$
K_{mO_2f}	$0 \pm^b$	$2 \pm 0,1$	$0 \pm^b$	$3 \pm 0,1$
K_{mcCO_2}	100 ± 35	-	100 ± 33	-
K_{muCO_2}	-	100 ± 25	3668 ± 861	-
K_{mnCO_2}	-	-	-	100 ± 20
CR	1	1	1	1

^b Valor fijo, error estándar no es aplicable

Según el ECM y el R^2_{adj} , el modelo de inhibición competitivo es el que mejor ajuste presenta respecto a los datos experimentales, como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Ajuste del modelo según distintos tipos efectos inhibitorios del CO_2 .

	ECM	R^2_{adj}
Competitivo	10,5	97,9%
Acompetitivo	14,7	95,7%

Mixto	10,6	97,8%
No competitivo	14,9	95,6%

La Fig. 1 representa tanto los valores experimentales (medias) como el modelo elaborado a partir de la ecuación cinética de Michaëlis-Menten, que describe el consumo de O₂ en función de la concentración de O₂, la temperatura y la presencia de CO₂ (0 y 20 kPa). Se aprecia en ella que las bajas concentraciones de O₂ (0-3 kPa) y la temperatura influyen significativamente en este parámetro.

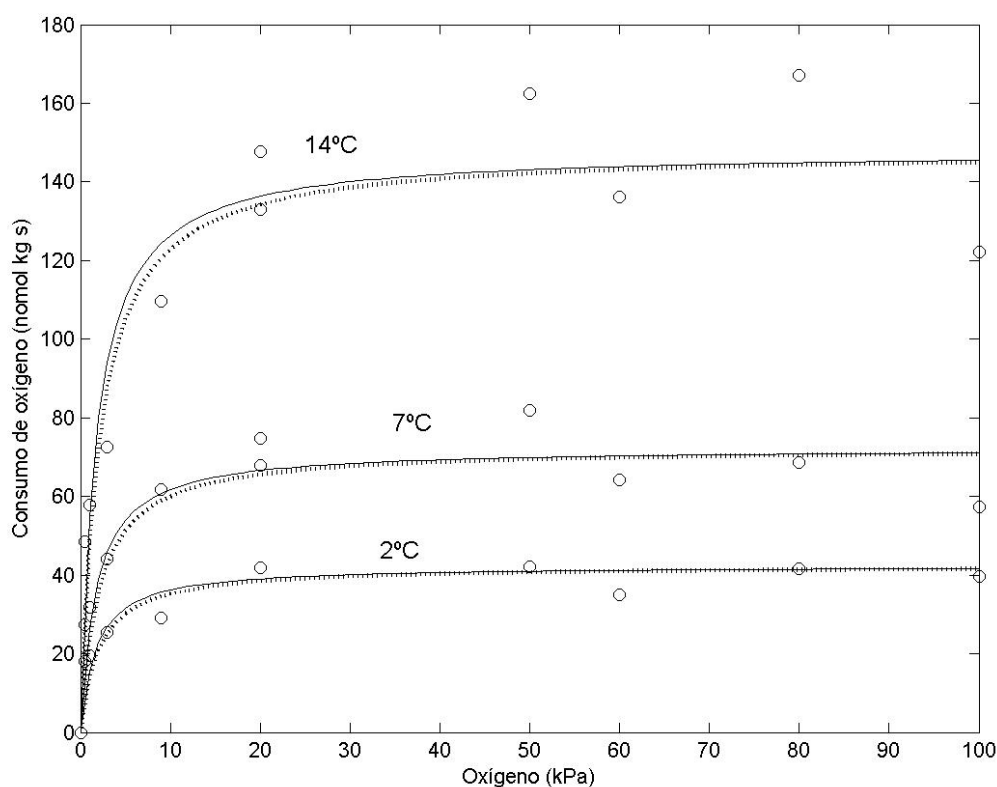


Figura 1. Valores experimentales (símbolos) y modelo (ecuaciones 3 y 4) (líneas) para el consumo de O₂ (nmol kg⁻¹ s⁻¹) de pimiento “Meteor” MPF en función de la concentración de O₂ (kPa), la presencia o no de 20 kPa CO₂ y diferentes temperaturas. Línea continua = 20 kPa CO₂; línea discontinua = 0 kPa CO₂

La Figura 2 se plantea como la anterior pero describiendo la emisión de CO₂. Se observa el mismo comportamiento aunque en este caso, el CO₂ tiene un efecto ligeramente mayor sobre la actividad respiratoria. Resalta que, a cualquier temperatura y sobre todo al aumentar ésta, se produjo un mínimo respiratorio entre 0 y 3 kPa O₂. Este comportamiento es típico de los productos vegetales, como han reportado Renault *et al.* (1994), Hertog *et al.* (1999) y Geysen *et al.* (2005).

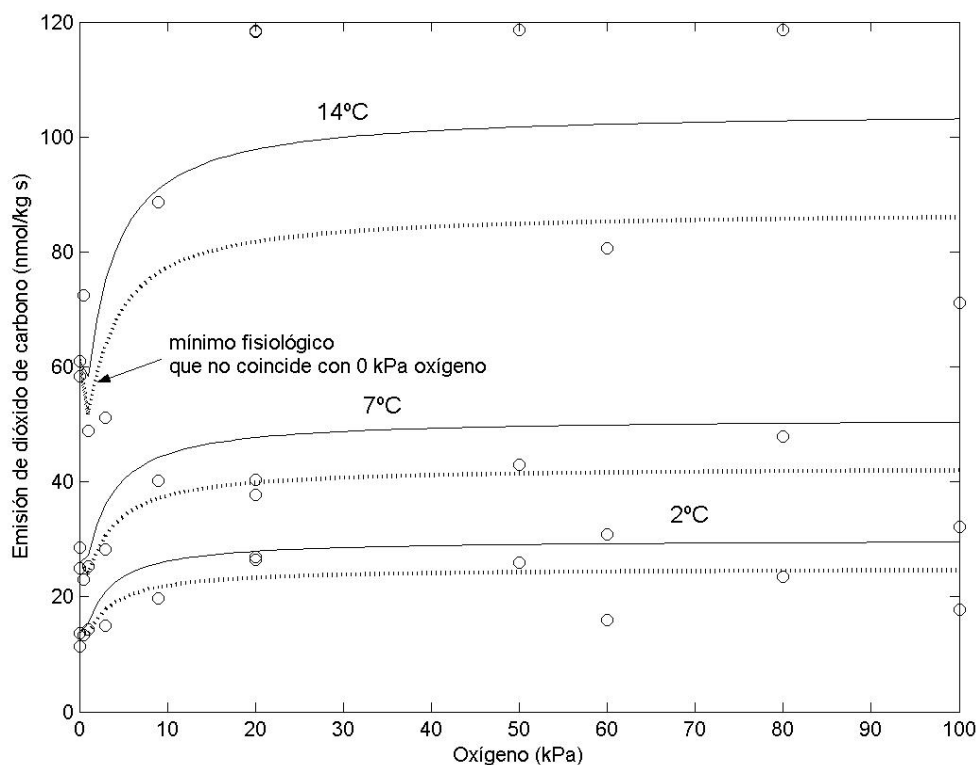


Figura 2. Valores experimentales (símbolos) y modelo (ecuaciones 2 y 3) (líneas) para la emisión de CO_2 ($\text{nmol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$) de pimienta “Meteor” MPF en función de la concentración de O_2 (kPa), la presencia o no de 20 kPa CO_2 y diferentes temperaturas. Línea continua= 20 kPa CO_2 ; línea discontinua= 0 kPa CO_2

Se observó que las atmósferas con altas concentraciones de O_2 no tuvieron efecto ni en el consumo respiratorio de O_2 ni en la producción de CO_2 . Así, no se observó un incremento significativo en estos parámetros a partir de 20 kPa O_2 . En cambio, concentraciones inferiores a 9 kPa O_2 sí indujeron una menor actividad respiratoria. En consecuencia, el modelo de Michaelis-Menten es aplicable aún con concentraciones de O_2 superiores a 20 kPa.

Renault *et al.* (1994), observaron que concentraciones de O_2 entre 2 y 20 kPa no tuvieron efecto sobre el consumo de O_2 de fresa “Selva”, lo que corroboraron Geysen *et al.* (2005) con fresa “Elsanta”. En el presente experimento se da una situación similar entre 3 y 20 kPa, lo que se refleja en el bajo valor de KmO_2 (Tabla 1). Por otro lado, pequeñas variaciones de la concentración de O_2 entre 0 y 3 kPa indujeron notables cambios en la tasa de consumo de O_2 (Fig. 1 y Fig. 2).

Como cabía esperar, con bajas concentraciones de O_2 se produjeron fermentaciones, hecho reflejado en un incremento significativo del CR, motivado por una mayor emisión de CO_2 respecto al consumo de O_2 . En este trabajo, la constante de Michaelis-Menten para la fermentación (KmO_2f) fue igual a 3, lo cual se considera un valor normal. Sin embargo, Geysen *et al.* (2005) obtuvieron un valor bajo ($\text{KmO}_2\text{f} = 0,14$), lo que se tradujo en una mayor intensidad de los procesos fermentativos. En nuestro modelo para pimienta MPF, el CR se estima en 1, de acuerdo con los valores obtenidos en fresa por Hertog *et al.* (1999) y Renault *et al.* (1994) que fueron 0,91 y 1 respectivamente. Geysen *et al.* (2005) en cambio, obtuvieron un valor bajo (0,66). Suponer el valor de $\text{CR}=1$ es debido fundamentalmente a que el sustrato respiratorio del pimienta MPF será mayoritariamente carbohidratos (Kader, 2002) y a que este producto procesado no acumularía CO_2 en su interior (Geysen *et al.*, 2005; Renault *et al.*, 1994).

La atmósfera de 20 kPa CO₂ provocó un aumento significativo de la actividad respiratoria, aunque este efecto fue significativamente menor que el que provocó la temperatura o la baja concentración de O₂ (0-3 kPa). Este resultado es acorde con el obtenido por Geysen *et al.* (2005), y en cambio difiere del reportado por Hertog *et al.* (1999), quienes no observaron un efecto del CO₂ sobre la tasa respiratoria. Por ello, el efecto inhibitor del CO₂ fue incluido en la elaboración del modelo de Michaëlis-Menten. En definitiva, el modelo que mejor se adapta para explicar el efecto del CO₂ sobre la actividad respiratoria fue el denominado de “inhibición competitiva”, que según el estudio estadístico, se ajustó bastante bien a la actividad respiratoria del pimiento MPF.

La tasa máxima de consumo de O₂ para una temperatura de referencia de 7°C (280°K) fue de 78 nmol kg⁻¹ s⁻¹, lo que sirve para establecer que se trata de un producto MPF que muestra una baja a moderada tasa de respiración. El efecto de la temperatura sobre la actividad respiratoria y en particular sobre el consumo de O₂ se refleja en la energía de activación (E_{avm} O₂) que fue de 68 kJ mol⁻¹. Este valor es similar al obtenido en fresa de 64 kJ mol⁻¹ por Geysen *et al.* (2005).

CONCLUSIONES

Se ha elaborado un modelo de predicción de la actividad respiratoria del pimiento MPF basado en la ecuación cinética de Michaëlis-Menten. El efecto de la temperatura fue incluido en el modelo a través de la ecuación de Arrhenius mientras que el del CO₂ queda descrito a través del modelo de “inhibición competitiva”.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Investigaciones Agrarias (RTA 04-035) y a la Fundación Séneca de la Región de Murcia (Proyecto 00553/PI/04) la financiación, así como al Instituto para la Promoción de la Innovación de la Ciencia y la Tecnología en Flanders (CO-Project 20803) sus instalaciones, También se agradece la concesión de una beca FPU por el MEC de España a A. Conesa.

BIBLIOGRAFÍA

- Artés, F. 2000. Productos vegetales procesados en fresco. En: Aplicación del frío a los alimentos. Ed: M. Lamúa. Edit: A. Madrid Ediciones. Cap.5. 127-141.
- Artés-Hernández, F., Artés, F. 2005. Concepción y ejecución de instalaciones industriales para el procesado mínimo en fresco de productos vegetales. En: Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. Edits. G. González-Aguilar, A.A. Gardea y F. Cuamea. Ed: CIAD-CYTED-CONACYT. 25: 456-472.
- Bolin, H.R., Stafford, A.E., Jr. King, A.D., Huxsoll, C.C. 1989. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *J. Food. Sci.*, 42: 1319-1321.
- Cameron, A.C., Talasari, P.C., Joles, D.W., 1995. Predicting film permeability needs for modified atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *Hort. Sci.* 30, 25-34.
- Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R., Brecht, J.K. 2002. Modelling respiration of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *J. Food Eng.* 52, 99-119.
- Geysen, S., Verlinden, B.E., Escalona, V.H., Conesa, A., Nicolai, B.M. 2005. Modelling respiration in fresh produce at superatmospheric oxygen and carbon dioxide concentrations: general approach and case study for strawberry and fresh-cut butterhead lettuce. 9th Int controlled atmosphere research conference. N°8. p. 4

- Hertog, M.L. Boerrigter, H.A.M., van den Boogaard, G.J., Tijsskens, L.M.M., Van Schaik, A. C.R. 1999. Predicting keeping quality of strawberries (cv. 'Elsanta') packed under modified atmospheres: an integrated model approach. *Postharvest Biol. Technol.*, 15: 1-12.
- Hertog, M.L.A.T., Peppelenbos, H.W., Evelo, R.G., Tijsskens, L.M.M. 1998. A dynamic and generic model of gas exchange of respiring produce: the effects of oxygen, carbon dioxide and temperature. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 335– 349.
- Izumi, H., Watada, A.E., Ko, N.P., Douglas, W. 1996. Controlled atmosphere storage of carrots slices, sticks and shreds. *Postharv. Biol. Technol.* 9:165-172
- Kader, A.A. 2002. Modified atmospheres during transport and storage. En: *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California. Publication 3311. Ed: A.A. Kader. 3rd Edition. 135-144.
- Peppelenbos, H. B., van 't Leven, J. 1996. Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 7: 27-40.
- Renault, P., Houal, L., Jacquemin, G., Chambroy, Y., 1994. Gas exchange in modified atmosphere packaging. 2: Experimental results with strawberries. *Int. J. Food Sci. Technol.* 29:379-394.