

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias e Ingeniería

**Evaluación del Citrinal SF 422 para el Control Bacteriano en Dos
Variedades de Lechuga de Hoja
(*LACTUCA SATIVA*)**

**Paola Natalie Campana Guevara
Stalin Santacruz, PH.D., Director de tesis**

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Ingeniera de
Alimentos

Quito, Octubre de 2013

Universidad San Francisco de Quito.

Colegio de Ciencias e Ingeniería

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**Evaluación de Citrinal SF422 para el Control Bacteriano en dos
Variedades de Lechuga de Hoja
(*LACTUCA SATIVA*)**

Paola Natalie Campana Guevara

Javier Garrido, MSc.
Coordinador de Ing. en Alimentos
Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Stalin Santacruz, Ph.D.
Director de tesis
Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Lucía Ramírez Cárdenas, Ph.D.
Miembro del comité de tesis
Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Ximena M. Córdova Vallejo, Ph.D.
Decana Escuela de Ingenierías
Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Quito, octubre de 2013

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: Paola Natalie Campana Guevara

C. I.: 171321352-6

Fecha: Quito, Octubre de 2013

DEDICATORIA

La presente investigación está dedicada a mis padres, Cesar Campana y Elizabeth Guevara por el amor, comprensión, apoyo, paciencia y dedicación que me han brindado durante toda mi vida y en especial en mi vida estudiantil.

A Ricardo Aulestia que con su amor y paciencia ha sabido ayudarme a terminar este trabajo teniendo en cuenta todos sus conocimientos.

A Dios por su amor infinito, por llenarme de bendiciones y misericordia, quien fue y será mi guía para conducirme por el camino correcto para ser una buena persona y una excelente profesional.

A mi abuelita Rosa Vallejo , que aunque no esté ya conmigo sé que me cuida desde el cielo y que gracias a su tolerancia, su apoyo y sus enseñanzas hoy soy una mujer de bien dispuesta a luchar por lo que quiero y por ser una excelente profesional.

A mis profesores del Colegio de Agricultura , Nutrición Y Alimentos por haberme brindado sus conocimientos Científicos, técnicos y prácticos , formando paso a paso mi vida profesional y fomentando bases que representara mi futuro en la Ingeniería de Alimentos, como una profesional ,capaz, competente y leal a los principios éticos .

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser el guía y brindarme fortaleza en todos los momentos e instantes de mi vida, por regalarme la vida y ser mi inspiración .¡Gracias Dios!

A mis profesores : Javier Garrido, Lucia Ramírez, Stalin Santacruz y Francisco Carvajal que con paciencia han nutrido mis conocimientos para poder realizar este trabajo y poder seguir adelante en mi vida profesional.

A mis abuelitos: Matías Guevara, Bertha Robles, por brindarme todo su amor , comprensión y paciencia, enseñándome valores para ser una persona de bien .

A mis compañeros de aula que nos hemos apoyado durante toda la carrera estudiantil, aprendiendo unos de otros.

A Carolina Andino, que me ayudo a concluir todos los análisis de esta tesis.

A la Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencia e Ingeniería autoridades, profesores e instalaciones por prepararnos y brindarnos la oportunidad de cumplir nuestras metas.

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el laboratorio y planta piloto de la Universidad San Francisco de Quito, en la parroquia de Cumbaya, Cantón Quito, provincia de Pichincha. Se determinaron los efectos de Citrinal SF422 para el control de desarrollo bacteriano y pardeamiento enzimático en dos variedades de lechuga de hoja (lechuga crespa y romana) Teniendo como parámetros la concentración de CitrinalSF422, variedades de lechuga y tiempo de almacenamiento, de allí que el propósito de esta investigación consistió en la realización de un análisis del efecto del CitrinalSF422 en las dos variedades de lechuga de hoja. Para ello fue necesario determinar las cantidades presentes de vitamina C, recuento de bacterias mesófilas totales, recuento de bacterias coliformes y recuento de mohos, adicionalmente se determinó el efecto de Citrinal SF422 en el pardeamiento enzimático del tallo de las dos variedades de lechuga. El presente estudio se justificó por cuanto la lechuga es un producto de gran demanda y su perecibilidad es alta a causa del pardeamiento enzimático y presencia de bacterias. El estudio se sustenta en los diseños experimentales aplicados, el trabajo investigativo se aborda desde la cantidad de vitamina C que contiene hasta la cantidad de bacterias permitidas en las dos variedades de lechuga de hoja, con la aplicación de los diseños experimentales elaborados que fueron 3, diseño experimental completamente aleatorizado 4x2, diseño experimental completamente aleatorizado 4x3 (lechuga romana) y diseño completamente aleatorizado 4x3(lechuga crespa). Se determinó que para la lechuga crespa la mejor concentración de Citrinal fue la concentración 3 y para la lechuga romana la mejor concentración fue la concentración 4. La concentración 3 y la concentración 4 controlan el crecimiento de bacterias y controlan el pardeamiento enzimático de las dos variedades de lechuga de hoja.

ABSTRACT

This research was conducted in the laboratory and pilot plant at the Universidad San Francisco de Quito , in the parish of Cumbaya , Canton Quito , Pichincha province , we determined the effects of Citrinal SF422 to control bacterial growth and enzymatic browning two varieties of leaf lettuce (lettuce crisp and Romaine) Taking as parameters Citrinal concentration SF422 , varieties of lettuce and storage time , hence the purpose of this research was to conduct an analysis of the effect of Sf422 Citrinal in both leaf lettuce varieties . It was necessary to determine the amounts present of vitamin C , total mesophilic bacterial count , coliform count and mold count , additionally Citrinal determine the effect of enzymatic browning SF422 in the stem of the two varieties of lettuce. The present study was justified because the lettuce is a product of high demand and high perishability is due to enzymatic browning and bacteria . The study is based on experimental designs applied research work is approached from the amount of vitamin C that contains up to the amount of bacteria allowed in the two varieties of leaf lettuce , with the application of experimental designs that were made 3, completely randomized design 4x2, 4x3 completely randomized design (romaine lettuce) and 4x3 completely randomized design (curly lettuce) .It was determined that the best crisp lettuce Citrinal concentration was the concentration 3 and romaine lettuce for the best concentration was the concentration 4. Concentration 3 and 4 control the growth of bacteria and control enzymatic browning of the two varieties of leaf lettuce.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION.....	13
2. JUSTIFICACIÓN:.....	16
3. OBJETIVOS:.....	17
3.1 Objetivo general:	17
3.2 Objetivo específico:	17
4. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	18
4.1 Conservación y Tratamientos para Hortalizas.....	18
4.2 Factores de Preservación de los Alimentos.....	18
4.2.1 pH	19
4.3 Citrinal SF422	21
4.3.1 Generalidades del Citrinal SF422.....	21
4.3.2 Compuestos del Citrinal SF422.....	22
4.3.3 Acidos organicos presentes en Citrinal SF422.....	17
4.3.3.1ÁcidoLáctico.....	25
4.3.3.2 Ácido Fumárico:.....	25
4.3.3.3 Ácido Málico:	26
4.3.3.4 Ácido Cítrico:.....	27
4.4 Lechugas de Hoja.....	28
4.4.1 Origen de la Lechuga.....	28
4.4.2 Importancia de la Lechuga	29
4.4.3Generalidades de la Lechuga:	29
4.4.4Variedades de Lechuga.....	30
4.4.4.1 Lechuga Crespa.....	27
4.4.4.2Lechuga Romana:.....	30
4.4.5Cultivo de Lechuga	31
4.4.6 Zonas de Producción:	32
4.4.7 Humedad Relativa del Ambiente.....	33
4.4.8 Recolección de la Lechuga:	33
4.4.9 Factores Biológicos Causantes de Deterioro de la Lechuga en Poscosecha:	34
4.4.9.1 Enfermedades.....	34
4.4.9.2 Pardeamiento Enzimático.....	35
4.4.10 Conservación:	38
4.4.11 Valor Nutricional.....	42
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47

5.1 Ubicación	47
5.2 Características del Material Vegetal.....	47
5.3 Características del Citrinal SF422.....	47
5.4 Materiales.....	47
5.4.1 Materiales para ensayos previos a realizar métodos analíticos	47
5.4.2 Materiales para la determinación de Vitamina C	48
5.4.3 Materiales para la Determinación de coliformes Totales.....	48
5.4.4 Materiales para la Determinación de mesófilos Totales	48
5.5 Métodos	49
5.5.1 Métodos Previos a los Métodos Analíticos	49
5.5.2 Métodos analíticos	41
5.5.2.1 Análisis de vitamina C	41
5.5.2.2 Análisis microbiológicos Coliformes, mesofilos totales y mohos	43
6. DISEÑO EXPERIMENTAL:.....	54
6.1 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2	54
6.2 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3	56
6.3 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3	58
7. RESULTADOS Y METODOS	49
7.1 Resultados de los Experimentos	49
7.2 Análisis de vitamina C	49
7.2.1 DCA 4x2 vitamina C	50
7.2.2 DCA 4x3 (lechuga Romana) vitamina C	52
7.2.3 DCA 4x3 (lechuga crespa) vitamina C	53
7.3 Recuento de Mesofilos Totales	54
7.3.1 DCA 4x2 recuento mesofilos totales	55
7.3.2 DCA 4x3 (lechuga romana) recuento mesofilos totales	57
7.3.3 DCA 4x3 (lechuga crespa) recuento mesofilos totales	58
7.4 Recuento de Coliformes	60
7.4.1 DCA 4x2 recuento coliformes	61
7.4.2 DCA 4x3 (lechuga romana) recuento coliformes	63
7.4.3 DCA 4x3 (lechuga crespa) recuento coliformes	65
7.5 Recuento de mohos	66
7.4.1 DCA 4x2 recuento mohos	67
7.4.2 DCA 4x3 (lechuga romana) recuento mohos.....	69
7.4.3 DCA 4x3 (lechuga crespa) recuento mohos.....	70
7.6 Analisis visual de pardeamiento enzimatico	71
8. CONCLUSIONES	87
9. RECOMENDACIONES.....	89
10. BIBLIOGRAFIA	90

Tabla de ilustraciones

Tabla 1	Conservantes Comúnmente Utilizados	24
Tabla 2	El uso del ácido cítrico en distintas industrias:.....	28
Tabla 3	Zonas de Producción de la Lechuga en el Ecuador	33
Tabla 4	Duración de la vida post- recolección de la lechuga en función de la temperatura de conservación	39
Tabla 5	Condiciones De Almacenamiento Óptimas Para Hortalizas	42
Tabla 6	Valores Nutricionales de Lechuga Romana en 100g fresca	45
Tabla 7.	Valores Nutricionales de Lechuga Crespá 100 g fresca.....	46
Tabla 8	Concentraciones de Citrinal SF 422 en Agua para el Tratamiento de Lechuga de Hoja Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422).....	51
Tabla 9	Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422).....	55
Tabla 10	Factor B tiempo de almacenamiento.....	55
Tabla 11	Variables	55
Tabla 12	Combinaciones de los factores A y B	55
Tabla 13	Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422).....	57
Tabla 14.	Factor B tiempo de almacenamiento.....	57
Tabla 15	Variables	57
Tabla 16	Combinaciones de los factores A y B.....	58
Tabla 17	Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422)	59
Tabla 18	Factor B tiempo de almacenamiento.....	59
Tabla 19	Variables	59
Tabla 20	Combinaciones de los factores A y B	60
Tabla 21	Análisis de Varianza (ANOVA) de la Concentración de Vitamina C factorial 4X2 en los tratamientos (concentración vs variedad de lechuga)	61
Tabla 22	Diferencia de medias	63
Tabla 23	Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)	64
Tabla 24	Diferencia de medias	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 25	Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo).....	65
Tabla 26.	Diferencia de medias (concentración de Citrinal vs variedad).....	66
Tabla 27	Diferencia de medias (concentración de Citrinal vs variedad)	67
Tabla 28	Análisis de Varianza (ANOVA) para los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo).....	69
Tabla 29	Diferencia de medias (concentración vs tiempo de almacenamiento)	70
Tabla 30	Análisis de Varianza (ANOVA) para los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo).....	71
Tabla 31	Diferencia de medias (concentración vs tiempo de almacenamiento).....	72
Tabla 32	Análisis de varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs variedad)	74
Tabla 33	Diferencia de medias	75
Tabla 34.	Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)	77
Tabla 35	Diferencia de medias (concentración vs tiempo):.....	78
Tabla 36	Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)	78
Tabla 37	Diferencia de medias (concentración vs tiempo):.....	79
Tabla 38	Análisis de varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs variedad de lechuga).....	81
Tabla 39	Diferencia de medias (concentración vs variedad de lechuga).....	82
Tabla 40.	Análisis de Varianza (ANOVA) de los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)	83
Tabla 41	Diferencia de medias (concentración vs tiempo)	84
Tabla 42	Análisis de Varianza (ANOVA) de los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)	84

Tabla 43 Diferencia de medias (concentración vs tiempo)	85
Tabla 44 Resultados del análisis visual de pardeamiento enzimático en las dos variedades de lechuga de hoja	106

Tabla de fotografías

fotografía 1 Lechuga Crespa Concentración 1 (Testigo) Tiempo Cero	88
fotografía 2 Lechuga Crespa Concentración 2 (5 ml de Citrinal en 10 litros de agua) tiempo cero	89
fotografía 3 Lechuga Crespa Concentración 3 (7,5 ml de Citrinal en 10 litros de agua) tiempo cero	90
fotografía 4 Lechuga Crespa Concentración 4(10 ml de Citrinal en 10 litros de agua)	90
fotografía 5 Lechuga Romana Concentracion 1 (TESTIGO) tiempo cero	91
fotografía 6 Lechuga Romana Concentración 2(5ml de Citrinal en 10 litros de agua) tiempo cero	92
fotografía 7 Lechuga Romana Concentración 3 (7,5 ml de Citrinal en 10 litros de agua) tiempo cero	92
fotografía 8 Lechuga Romana Concentración 4 (10 ml de Citrinal en 10 l de aguat tiempo cero	93
fotografía 9 Lechuga Crespa Concentración 1 tiempo 8 días	94
fotografía 10 Lechuga Crespa Concentración 2 tiempo 8 días	94
fotografía 11 Lechuga Crespa Concentración 3 tiempo 8 días	95
fotografía 12 Lechuga Crespa Concentración 4 tiempo 8 días	96
fotografía 13 Lechuga Romana Concentración 1 tiempo 8 días	96
fotografía 14 Lechuga Romana Concentración 2 tiempo 8 días	97
fotografía 15 Lechuga Romana Concentración 3 tiempo 8 días	98
fotografía 16 Lechuga Romana Concentración 4 tiempo 8 días	98
fotografía 17 L echuga Crespa Concentración 1 tiempo 16 días	99
fotografía 18 Lechuga Crespa Concentración 2 tiempo 16 días	100
fotografía 19 Lechuga Crespa Concentración 3 tiempo 16 días	100
fotografía 20 Lechuga Crespa Concentración 4 tiempo 16 días	101
fotografía 21 Lechuga Romana Concentración 1 tiempo 16 días	102
fotografía 22 Lechuga Romana Concentración 2 tiempo 16 días	102
fotografía 23 Lechuga Romana Concentración 3 tiempo 16 días	103
fotografía 24 Lechuga Romana Concentración 4 tiempo 16 días	104

1. INTRODUCCIÓN

La lechuga es una hortaliza aceptada a nivel mundial y su consumo tiene un gran desarrollo, siendo la hortaliza estrella, ya que con esta se realizan diferentes tipos de ensaladas por lo que en el ámbito gastronómico es muy importante en platos y su decoración.

Esta hortaliza tiene un aporte calórico muy bajo, es fuente importante de vitaminas C, A, E y K y aporta minerales tales como el potasio, calcio y fósforo (Suquilanda, 2003)

Esta hortaliza está compuesta casi en su totalidad de agua, siendo ésta el 94% de su composición.

Durante mucho tiempo el consumo de lechuga tomó fuerza por sus propiedades preventivas. Científicos británicos del Departamento de Nutrición de la Universidad de Southampton comprobaron que la ingesta diaria de lechuga de 100 g/ kg, trae al organismo importantes beneficios antioxidantes.

El estudio realizado por el Departamento de Nutrición de la Universidad de Southampton reveló que comer diariamente este alimento previene las afecciones cardiovasculares, equilibra los niveles elevados de colesterol y normaliza la función hepática. Es un producto ideal para combatir el estreñimiento por su contenido de fibra.

La demanda en el mercado es mayor en estas dos variedades de lechuga (crespa y romana) además su disponibilidad es durante todo el año y cumplen con condiciones de

almacenamiento y nutricionales que se presentan en los supermercados para su comercialización.

El cultivo de lechuga en el Ecuador creció en los últimos años de manera significativa debido a los cambios alimenticios hacia un mayor consumo de hortalizas en la dieta diaria. Su cultivo en varias zonas del país es muy amplio y se concentra primordialmente en la sierra por sus condiciones climáticas. El volumen de producción de hortalizas permitió atender al mercado local e incursionar en las exportaciones.

Además se ha orientado parte de su producción hacia la agroindustria, con la elaboración de productos con mayor valor agregado como son las ensaladas listas para consumir

En el Ecuador, el consumo de lechuga y su producción tiene cada vez más fuerza al tornarse como un producto indispensable para la mesa de los ecuatorianos. A pesar de no ser un producto endémico, se introdujo su utilización para la elaboración de platos típicos desde hace unos 100 años.

En el tercer y último censo agropecuario del año 2000, los resultados dieron que el área cultivada de lechuga en el Ecuador es de 1278 hectáreas como monocultivo y de 366 hectáreas de cultivos de asociación determinándose un rendimiento promedio de 7.5 toneladas por hectáreas.

La provincia que tiene la mayor producción es Tungurahua, con 3.256 Tm de lechuga cultivada en un área de 640 hectáreas, seguida de Chimborazo con 2.560 Tm en una extensión de 366 hectáreas.

Pichincha se coloca en tercer lugar con 68 hectáreas y una producción de 548 Tm, Carchi, Imbabura, Azuay y Loja mantiene promedios de entre 45 y 49 hectáreas de sembríos, mientras que Cotopaxi y Cañar registran 4 y 29 hectáreas, respectivamente. Estas cifras, según el estudio, no variaron en los primeros seis meses del 2006.(Mena,2010)

Debido al alto contenido de agua de la lechuga, 94%, no hay un método exitoso para preservarla por un período largo, puesto que la lechuga tiene un tiempo de vida útil aproximadamente 8 días.

La presente investigación se tratará de mejorar el tiempo de vida útil evitando el pardeamiento en el tallo y las hojas.

En la actualidad se han realizado algunas investigaciones para extender la vida útil de la lechuga debido a la necesidad de mejorar e incrementar rendimientos y mejoras al producto final, reduciendo las pérdidas.

Las lechugas tienen una corta vida poscosecha, dada por el pardeamiento enzimático, la deshidratación, la disminución de la turgencia, amarillamiento producido por la degradación de la clorofila, factores que empobrecen su apariencia.

(Namesny, 1993)

Las lechugas están expuestas a varios deterioros, en especial entre la cosecha y comercialización, debido esencialmente a causas fisiológicas, agresiones microbiológicas y deterioros físicos.

Hasta hoy en día el principal procedimiento de control para el pardeamiento enzimático, está proporcionado por la acción sinérgica entre el ácido ascórbico y el ácido cítrico. (Wiley, 1997)

En base a Wiley (1997) Basándonos en la cita anterior se utilizó Citrinal SF422 cuyo componente principal es el ácido cítrico, seguido por tres ácidos orgánicos de cadena larga que son Ácido Láctico, Ácido D-L Málico Y Ácido Fumárico. Se valoró el efecto del Citrinal SF422 en cuatro concentraciones en dos variedades de lechuga (crespa y romana), sobre el pardeamiento enzimático en el tallo y la disminución de carga bacteriana.

2. JUSTIFICACIÓN

El Ecuador es un país en el que la agricultura tiene gran importancia en su economía.

La geografía del Ecuador y la ubicación de las unidades de producción agrícola han sido durante años un factor muy importante en la calidad de los productos que encontramos en las perchas de supermercados y tiendas.

La importancia en la economía agrícola se ve reducida por las condiciones extremas de transporte y las prácticas agrícolas actuales. Adicionalmente se debe considerar las condiciones que se manejan para productos de alta perecibilidad como la lechuga.

Un producto de gran demanda y volumen de producción es la lechuga en sus distintas variedades; pero la lechuga tiene problemas de contaminación bacteriana y pardeamiento enzimático. Es por esto que este estudio estuvo enfocado a reducir la carga microbiana, el pardeamiento en la base del tallo y mejorar la apariencia del producto final.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general:

Determinar los efectos del Citrinal SF 422 para el control de desarrollo bacteriano y pardeamiento enzimático en dos variedades de lechuga de hoja. (*lactuca sativa* var, Romaine y *lactuca sativa* var, Longuifolia)

3.2 Objetivo específico:

- a) Determinar la concentración óptima de Citrinal SF 422 para evitar el crecimiento de bacterias patógenas, en dos variedades de lechuga de hoja : lechuga romana (*lactuca sativa* var, Romaine) y lechuga crespa (*lactuca sativa* var, Longuifolia)
- b) Determinar la cantidad presente de vitamina C, microorganismos mesófilos, coliformes y mohos en dos variedades de lechuga de hoja luego del tratamiento con Citrinal SF 422.
- c) Determinar el efecto de Citrinal SF422 sobre el pardeamiento enzimático en el tallo de las dos variedades de lechuga de hoja de forma visual.

4. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 Conservación y Tratamientos para Hortalizas

Los vegetales más consumidos son los cereales, las leguminosas y los tubérculos que son la base de la dieta diaria. El término hortalizas incluye una escala de vegetales. La mayoría de hortalizas contiene el 80% de agua, y su valor de macronutrientes es limitado. (Conning,1992)

Se realizan diferentes tipos de tratamientos para las hortalizas para que el producto sea comestible, reducir toxinas vegetales y para la preservación del producto.(Arthey y Dennis, 1992)

Es importante considerar que para preservar los alimentos se debe reducir la actividad enzimática, eliminar el agua, reducir el pH y controlar la atmósfera.(Arthey y Dennis, 1992)

4.2 Factores de Preservación de los Alimentos

En esta tesis se redujo el pH del agua con concentraciones diferentes de Citrinal SF422, para inhibir a la enzima polifenoloxidasa y disminuyo el crecimiento microbiano en la lechuga.

4.2.1 pH

La mayoría de enzimas actúa efectivamente cuando las concentraciones de iones de hidrógeno se hallan entre 6 y 8 y tiene un efecto único que los microorganismos actúen con un pH menor. Las frutas y hortalizas tienen la preeminencia de que el pH de sus fluidos celulares sea levemente ácido, apto de impedir el crecimiento de muchas bacterias, la modificación microbiológica de las hortalizas es resultado esencialmente de hongos, pero se hallan bacterias que producen ablandamiento de las hortalizas lo que genera la estimulación de pérdidas graves. (Arthey y Dennis, 1992)

El control microbiológico de elaboración de los alimentos tiene como propósito proveer productos seguros e inocuos lo cual puede producir alimentos con una vida útil lo adecuadamente comercial y seguro para el consumidor.

La inocuidad de los alimentos es muy importante ya que es la ausencia de microorganismos patógenos, a pesar de grandes esfuerzos realizados, es casi nula ya que siempre van a existir bacterias, hongos o levaduras, pero eso no quiere decir que todas sean bacterias patógenas ya que existen muchas bacterias que sirven para el procesamiento de alimentos como por ejemplo bacterias que ayudan a la fermentación, pero la acumulación de bacterias, hongos, levaduras pueden generar también significativas bajas económicas, ya que estas producen pérdidas grandes causadas por la alteración de los productos.

Es por esto que es muy importante el control de alteraciones microbianas para evitar enfermedades producidas por la contaminación de los alimentos. Se han determinado

diferentes métodos para controlar las alteraciones microbianas y con estos crear una prevención por el consumo de los mismos.(Mossel et al. 2006)

El efecto de acidificación depende de la concentración como efecto antimicrobiano. El efecto antimicrobiano en muchos ácidos orgánicos se ejerce a través de la forma no disociada y este factor tiene mayor importancia para la baja de pH, la forma disociada al ser un anión es altamente polar, por lo tanto es más fácil que atraviese el ácido a la membrana plasmática de los microorganismo, el ácido se disocia y afecta el pH intracelular microbiano.(Rodriguez –Palenzuela, 2001)

La acidez o la alcalinidad de un medio tiene mayor dominio en la estabilidad de las macromoléculas como las enzimas pero del mismo modo es predominante el crecimiento de microorganismos influidos por el pH.

Frecuentemente las bacterias crecen con mayor velocidad en el nivel comprendido entre el 6.0 y el 8.0; las levaduras entre valores comprendidos en 4.5 y 6.0 y hongos en valores de 3.5 a 4.0.

La acidez de un producto tiene grandes implicaciones en la alteración de los productos, en las hortalizas su acidez generalmente tienen un pH ligeramente ácido por lo que bacterias como la *Erwiniacarotovora* y *pseudomonas*, cumplen un papel significativo ya que estas son las responsables de la putrefacción blanda. Es por esto que la utilización de ácidos orgánicos es muy importante para bajar el pH y evitar contaminaciones microbianas.(Adams y Moss, 1997)

4.2.2 Ácidos Orgánicos

Una de las formas de conservar los alimentos y evitar contaminaciones microbianas es el uso de ácidos orgánicos, ya que estos tienen un efecto microbiano y no son perjudiciales para la salud en concentraciones permitidas por la FDA y estos ácidos a la vez tienen un efecto conservador.

Los ácidos orgánicos han sido utilizados como acidulantes o antioxidantes en los alimentos y a la vez suministran un beneficio adicional por sus propiedades antimicrobianas, muchos de estos ácidos se producen en frutas y en vegetales como es el caso del ácido cítrico, succínico, málico, tartárico, Fumárico y en el caso de los ácidos lácticos y propiónico estos no están de forma natural solo en cantidades traza, aunque estos se produzcan fácilmente en la fermentación.

Estos ácidos orgánicos tienen como prioridad las paredes celulares, las enzimas metabólicas y la síntesis de proteína y el material genético por lo que estos ácidos atacan a una serie de microorganismos, numerosos ácidos orgánicos o sus derivados son usados como conservantes .(Shufiur Rahman, 2003)

4.3 Citrinal SF422

4.3.1 Generalidades del Citrinal SF422

El agua es una parte fundamental de la lechuga y es necesaria para su cultivo. Al estar en contacto directo con la hortaliza, se pueden producir microorganismos específicos en el agua como las pseudomonas y micrococos. Cuando la microflora alcanza niveles elevados en el agua esta no es aceptable para el cultivo de la hortaliza por el alto grado de

contaminación. Esta contaminación se debe a la presencia de aguas residuales que contienen residuos orgánicos.

El agua puede por lo tanto representar un factor importante para la transmisión de enfermedades infecciosas a través del consumo de lechuga alimentada con este tipo de agua.

El pH óptimo para el crecimiento de bacterias patógenas es de 5.8 a 8. Basado en esto se creó un producto Citrinal SF 422, el cual es una combinación de ácidos orgánicos naturales para el tratamiento de aguas contaminadas y salmonella en huevos. Es un producto ideal para el control de las bacterias patógenas que contaminan el agua y además ayuda a mejorar la vida útil de la lechuga de hoja. (HOJA TECNICA DE CITRINAL SF244)

4.3.2 Compuestos del Citrinal SF422

El Citrinal SF 422 está compuesto de los siguientes ácidos orgánicos naturales

Ácido Láctico 2g

Acido D-L Málico..... 5 g

Ácido Fumárico..... 5g

Ácido Cítrico..... 10g

Cantidades referidas por cada litro

Fuente: hoja técnica CITRINAL SF 422

4.3.3 Ácidos Orgánicos Presentes en el Citrinal SF422

Los ácidos orgánicos ayudan a generar una acidificación por lo que va a ayudar a evitar o disminuir el pardeamiento enzimático. El pardeamiento enzimático es un proceso que se da por la presencia de oxígeno, sustrato y enzima y todos estos procesos van producir una oxidación. Para evitar esta oxidación es necesario inactivar la enzima responsable que es la polifenoloxidasasa(PPO), en ciertos casos la inactivación y la eliminación de oxígeno es muy difícil, por lo que la única posibilidad, es el uso de ácidos, de antioxidantes o de quelantes. (Breverman, 1978)

La acidificación es el proceso en el cual el pH de un alimento o sustancia se modifica, se reduce el pH impidiendo el crecimiento de microorganismos. Este proceso se da colocando al alimento en sustancias ácidas o en soluciones con ácidos, siendo un método de conservación que previene el crecimiento de bacterias y favorece conservar la calidad. En diferentes alimentos encontramos ácidos orgánicos como es el caso del ácido cítrico que se encuentra en los cítricos, los ácidos málico, succínico y tartárico en frutas como uva, piña etc. Los ácidos lácticos aparecen en los alimentos en cantidades trazas. (Infoagro, 2011;Shufiur Rahman, 2003)

Los conservantes químicos, se han utilizado por varios años como conservante para prolongar la vida útil de los alimentos. Estos conservantes químicos pueden actuar como antimicrobianos en alimentos procesados o ligeramente procesados; es permitido el uso de estos ácidos como revestimiento. Estos ácidos son: ácido acético, láctico, Fumárico, málico, y cítrico; todos estos conservantes deben tener la categoría generalmente

reconocida como segura (GRAS) por la Food and Drug Administration (FDA). (Shufiur Rahman, 2003)

Han existido muchas pruebas realizadas en animales para determinar cuál es su grado de toxicidad, si son permitidos o no, si son cancerígenos o no, cuales son los efectos en la salud, cumplen o no con su objetivo conservante. Estas pruebas han permitido determinar si estos conservantes químicos actúan como antimicrobianos y alargan la vida útil del alimento teniendo en cuenta que cada uno de estos conservantes químicos tengan la categoría GRAS determinada por la FDA. (Lück y Jager, 2000)

Tabla 1. Conservantes Comúnmente Utilizados

Conservantes	Clasificación	U.S FDA 21CFR#
Ácido acético	GRAS, agente de curado en alimentos que no excedan la GMP	184.1005
Ácido málico*	GRAS agente antimicrobiano	
EDTA	Conservante	184.1021
Ácido cítrico*	GRAS, GMP	172.120
Ácido fumárico*	GRAS, Aditivo nutritivo, agente antimicrobiano	172.350
Acido láctico*	GRAS, agente antimicrobiano	184.1061
Metilparaben	GRAS, agente antimicrobiano	184.1490
Natamicina	GRAS, agente antimicrobiano	172.155
Sorbato potásico	Inhibidor de mohos en cuñas de queso	182.3640
Ácido propiónico	GRAS, agente antimicrobiano	184.1061
Propilparaben	GRAS, agente antimicrobiano	184.1670
Benzoato sódico	GRAS, agente antimicrobiano	184.1733

GRAS = Generalmente reconocida como segura por la Food and Drug Administration (FDA).

GMP = Buena práctica de fabricación

* = ácidos presentes en CITRINAL SF422

Fuente: (SHUFIUR RAHMAN.2003) PG 632

Tabla 1

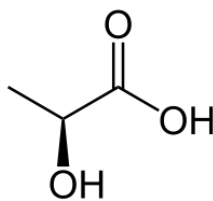
El CitrinalSF 422 está compuesto por ácidos orgánicos naturales y es importante determinar cuáles son los usos de cada ácido y sus efectos en la salud.

4.3.3.1 Ácido Láctico

Es un líquido incoloro y ligeramente amarillento, este ácido no es mutagénico se forma en los alimentos durante procesos de fermentación, es un producto natural, tiene un efecto antimicrobiano leve ya que se manifiesta como conservante en concentraciones superiores al 0.5% y está dirigido principalmente a las bacterias anaeróbicas. Este ácido causa una reducción de pH siendo este su aspecto más importante y relevante ya que este actúa como regulador de acidez, su ingesta diaria máxima es limitada (Lück y Jager, 2000)

El ácido láctico juega papeles muy importantes en diferentes procesos bioquímicos, como la fermentación láctica, es un ácido carboxílico con un grupo hidroxilo. Este ácido se lo puede obtener de la lactosa pero generalmente el ácido láctico utilizado comercialmente es producido del cultivo de bacterias como *lactobacillus bulgaricus*. (Wikipedia,2011)

FORMULA DEL ÁCIDO LACTICO (Wikipedia, 2011)



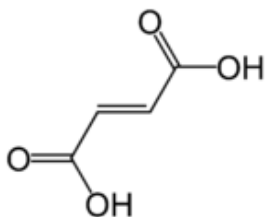
FORMULA MOLECULAR: C₃H₆O₃(Wikipedia, 2011)

4.3.3.2 Ácido Fumárico:

Es un compuesto cristalino e incoloro, este ácido se encuentra en hongos y plantas, se encuentra también en frutas y vegetales, se lo obtiene por síntesis química y también por la fermentación de azúcar con hongos. El ácido fumárico interviene en rutas metabólicas en especial en el Ciclo de Krebs como intermediario metabólico, es utilizado como ácido y

como estabilizador estructural de una serie de productos, se lo utiliza también en procesado y conservación de alimentos como agente antimicrobiano. Su ingesta diaria máxima es limitada (Shafiur Rahman.2003; Wikipedia, 2011)

FORMULA DEL ÁCIDO FUMÁRICO. (Wikipedia, 2011)

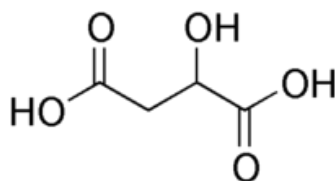


FORMULA MOLECULAR: $C_4H_4O_4$ (Wikipedia,2011)

4.3.2.3 Ácido Málico:

Es un compuesto no incoloro, se encuentra en uvas, cerezas y en otros frutos en especial en la manzana, la primera vez que se obtuvo el ácido málico fue por un químico en 1785 aislándolo de la sidra, este ácido también se lo encuentra en los vinos. Se lo obtiene a partir del ácido tartárico y del ácido succínico, este ácido tiene una particularidad que al calentarlo se deshidrata formado el ácido málico, forma parte principal en el Ciclo de Krebs ya que su función es participar en el proceso complejo del adenosintrifosfato (ATP), se lo utiliza como aditivo y conservante por su acción antimicrobiana y su agradable aroma. Su ingesta diaria máxima es limitada.(Shafiur Rahman, 2003;Wikipedia,2011)

FORMULA DEL ÁCIDO MALICO (Wikipedia, 2011)



FORMULA MOLECULAR: $C_4H_6O_5$ (Wikipedia, 2011)

4.3.2.4 Ácido Cítrico:

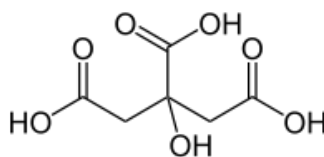
Es un sólido blanco, soluble en agua y poco soluble en disolventes orgánicos, se encuentra en plantas y animales, puesto que es producto intermediario del metabolismo; en cantidades mayores encontramos el ácido cítrico en jugo de frutas cítricas, se obtiene añadiendo oxido de calcio, el ácido cítrico es el más utilizado en la industria alimentaria. Su ingesta diaria máxima es limitada. El principal inicio de elaboración comercial del ácido cítrico es la fermentación del azúcar por la acción del hongo *Aspergillus niger*. (Shafiur Rahman.2003; Wikipedia, 2011)

Se emplea como aditivo en bebidas y alimentos para darles un agradable sabor (Shafiur Rahman.2003; Wikipedia, 2011)

El ácido cítrico es un agente secuestrante, puesto que tiene la capacidad de secuestrar cantidades vestigiales de metales, creando quelatos e inhibiendo la acción de ellos. Los agentes secuestrantes, junto con antioxidantes crean un efecto sinérgico impidiendo las oxidaciones en los alimentos. (Braverman, 1978)

El ácido cítrico es loable en concentraciones no muy altas, para inactivar enzimas como la polifenoloxidasas que es la causante de reacciones de pardeamiento. (Wiley, 1997)

FORMULA DEL ÁCIDO CÍTRICO (Wikipedia, 2011)



FORMULA MOLECULAR: $C_6H_8O_7$ (Wikipedia, 2011)

Tabla 2.El uso del ácido cítrico en distintas industrias:

Sector	Uso
Bebidas	Saborizante y regulador del pH; incrementa la efectividad de los conservantes antimicrobianos
Dulces y Conservas	Acidulante y regulador del pH para lograr una óptima gelificación
Caramelos	Acidulante y regulador del pH con el objetivo de alcanzar la máxima dureza de los geles
Verduras Procesadas	previene la oxidación
Alimentos Congelados	Ayuda a la acción de los antioxidantes; inactiva enzimas previniendo pardeamientos indeseables; inhibe el deterioro del flavor y el color
Frutas y Hortalizas Enlatadas	Disminuye el pH; al actuar como quelante; previene la oxidación enzimática y la degradación del color, resalta el sabor.
Aceites y Grasas	Previene la oxidación
Confitería y Repostería	Se utiliza como acidulante, resaltador de sabores y para optimizar las características de los geles
Quesos Pasteurizados y Procesados	En forma de sal, como emulsificante y texturizante
Lácteos	Estabilizante en cremas batidas
Productos de la Pesca	Para bajar el pH en presencia de otros conservantes o antioxidantes
Carnes	Se utiliza como auxiliar del procesado y modificador de textura

FUENTE: CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO

Tabla 2

4.4 Lechugas de Hoja

4.4.1 Origen de la Lechuga

La lechuga tiene su aparición en tumbas egipcias, en forma de pinturas en el año 4500 AC.

Se implantó en China en los años 600 a 900 AC. Fue traída al nuevo mundo por los primeros exploradores y esta fue cultivada en el Caribe, las lechugas de hoy en día son provenientes de *lactuca serriola*, dando de esta hibridaciones entre diferentes especies y en un proceso evolutivo tenemos como resultado a la lechuga actual. (Suquilanda, 2003)

4.4.2 Importancia de la Lechuga

La lechuga es muy importante ya que esta tiene una gran importancia a nivel económico, por lo que se cultiva a nivel mundial, puesto que las nuevas tendencias alimenticias nos llevan a mayor consumo de verduras o ensaladas y en la mayoría de las ensaladas está presente esta hortaliza se la consume cruda. (Eroski, 2005)

La lechuga además es una fuente de vitaminas, minerales, agua y fibra, posee también antioxidantes y todos estos elementos nos ayudan para el buen funcionamiento de nuestro organismo. (Eroski, 2005)

La lechuga es muy importante ya que cuenta con bajo contenido de grasa e hidratos de carbono y con un alto contenido de agua lo que nos proporciona bajo poder calórico de 13 kcal por cada 100 g. (Eroski, 2005)

4.4.3 Generalidades de la Lechuga:

Nombre común o vulgar: Lechuga

Nombre científico o latino: *Lactuca sativa sp.*

Familia: Compuestas.

La lechuga es una planta de ciclo corto. En su estado silvestre es una planta pequeña y de sabor amargo, pero la selección del hombre a lo largo del tiempo ha propiciado gran variedad de lechugas, de diversos sabores y texturas. (Suquilanda, 2003)

4.4.4 Variedades de Lechuga

Existen muchas variedades de lechugas pero en este caso nos enfocaremos en dos variedades: crespa y romana

4.4.4.1 Lechuga Crespa:

La lechuga crespa (de nombre científico *Lactuca sativa* L. var. *longifolia*), la lechuga de hoja o rizada, no tiene forma de cabeza compacta sino tiene la apariencia de un manojo de hojas, es conocida como green salad bowl, es similar a las lechugas de hojas lisas excepto que sus hojas son más crespas y su sabor es algo más fuerte. Tiene características particulares tales como la forma de hoja de roble pronunciada. (Valencia, 1997)

4.4.4.2 Lechuga Romana:

La Lechuga romana (de nombre científico *Lactuca sativa* L. var. *Romaine*) es una variedad de lechuga que crece con una larga cabeza cilíndrica y que posee hojas robustas, estrechas más alargadas con un robusto nervio central. Esta lechuga también se la llama lechuga de col (Valencia, 1997)

4.4.5 Cultivo de Lechuga

El cultivo de lechuga en el Ecuador se realiza en zonas donde existe una precipitación anual de 1.200 a 1.500 mm de lluvia durante el cultivo. La temperatura tiene que oscilar entre 15 a 18 °C y su cultivo se debe realizar en una altura de alrededor de 1.880 a 2.800 metros sobre el nivel del mar, con una humedad relativa de 90 a 95%. (Suquilanda, 2003)

Las altas temperaturas impiden su crecimiento por lo que pierde agua y humedad que necesita para su crecimiento. Las hojas pueden volverse amargas. (Suquilanda, 2003)

En el cultivo de la lechuga es indispensable el requerimiento de suelos franco arenosos y franco limoso, con un buen sistema de riego y con un pH de 5.5 a 7 para su desarrollo y buena producción. (Suquilanda, 2003)

La madurez de la lechuga se fundamenta en la compactación de la cabeza. Una cabeza compacta demanda mayor fuerza manual para ser comprimida y esto se toma como consideración para ser cosechada, una cabeza inmadura o extremadamente firme es considerada sobremadura lo cual afecta a su calidad por lo que se recomienda una lechuga madura ya que tiene mejor sabor y no afecta la calidad. (Universidad de California Davis, 2011)

Es importante decir, que existen factores que se los mide de manera individual, al momento de cosechar las lechugas se realizan diferentes procesos de: corte, limpieza, preenvasado, clasificación y envasado. (Giacconi.1995 y Namesny.1993)

La lechuga debe presentar un color verde brillante, hojas crujientes y turgentes, esto se debe dar después de eliminar las primeras hojas exteriores.(Universidad de California Davis.2011)

Entre las variedades más utilizadas en el Ecuador tenemos: lechuga romana, lechuga criolla y lechuga crespa

4.4.6 Zonas de Producción:

La distribución geográfica de producción de lechuga en el Ecuador se encuentra en los valles secos y templados de la sierra como son: Mira, valle del Chota, Pimampiro, Ibarra, valle de Guayllabamba, San Antonio de Pichincha, El Quinche – Puembo, Machachi, Latacunga, Ambato - Huachi, Píllaro, Chambo, Penipe, Guamote, Azogues, Girón y Vilcabamba. (Proyecto SICA/MAGAP)

Según el Ministerio de Agricultura en Ecuador, en el año 2007 existieron 1.144 ha. dedicadas al cultivo de lechuga con un rendimiento de 7.928 kg por ha. de la producción total, el 40% es de lechuga criolla, mientras que el 30 % es de lechuga romana y el 30 % es de lechuga crespa.

Tabla 3.Zonas de Producción de la Lechuga en el Ecuador

Zonas	Producción/ Toneladas	Ha/cosechadas
Carchi	42	318
Imbabura	22	148
Pichincha	70	577
Cotopaxi	4	29
Tungurahua	518	3632
Chimborazo	315	2125
Cañar	23	99
Azuay	60	402
Loja	53	202

Fuente: MAGAP.2006

Tabla 3

4.4.7 Humedad Relativa del Ambiente.

La humedad relativa conveniente para la lechuga es del 60 al 80%.

4.4.8Recolección de la Lechuga:

En el Ecuador la duración del cultivo es de 20 a 90 días(Suquilanda,2003)

En 20 días están listas para su consumo. Las hojas un poco marchitas se recobrarán sumergiéndolas en agua fría con hielo por algunos minutos al momento de consumirlas. (Suquilanda, 2003)

La formación de tallos florecientes es causada por una combinación de días largos, de temperaturas calientes y la etapa de madurez de la planta.

Cuando los tallos florecientes comienzan a formarse, se cosecha la lechuga inmediatamente y se la almacena en el refrigerador o en lugares fríos para evitar su pardeamiento y oxidación. (Arthey y Dennis, 1992)

4.4.9 Factores Biológicos Causantes de Deterioro de la Lechuga en Poscosecha:

4.4.9.1 Enfermedades

Los alimentos están formados de microorganismos en su microflora que están estrechamente unidos con las materias primas que lo componen. Existen también microorganismos que se van uniendo en la manipulación, procesamiento y almacenamiento. (Arthey y Dennis, 1992)

Los microorganismos demandan ciertos medios para el crecimiento y reproducción estas son: pH y la actividad de agua y factores extrínsecos que están asociados con el almacenamiento, como la producción de gas y temperatura, todo esto se encuentra dentro de los productos envasados. (Parry, 1995)

Las enfermedades más importantes de poscosecha de la lechuga son la pudrición blanda bacteriana, pudrición gris, y marchitamiento de aspecto moteado, las pudriciones blandas son producidas por varias bacterias, su deterioro es de aspecto sucio del tejido infectado, es muy importante la eliminación de hojas exteriores, enfriamiento rápido y baja temperatura de almacenamiento para así evitar o reducir las pudriciones blandas bacterianas. (Universidad de California Davis, 2003; Infoagro, 2011)

La presencia de hongos como la *Sclerotinia* o *Botrytis cinerea* en la lechuga causan el ablandamiento acuoso, estas se diferencian de las pudriciones blandas bacterianas por la formación de esporas negras y grises, para evitar estas pudriciones es necesaria la eliminación de hojas exteriores y baja temperatura. (Infoagro, 2011)

4.4.9.2 Pardeamiento Enzimático

El daño de los alimentos, está dado por la acción de microorganismos. Adicionalmente, la pérdida en la calidad de frutas y hortalizas en poscosecha pueden disminuirse no solo vigilando el crecimiento microbiano, sino inactivando las enzimas endógenas que siguen operando en las hortalizas procesadas y almacenadas. (Ashie, Simpson y Smith, 1996)

La calidad y la apariencia son factores fundamentales para las hortalizas, esta se ve afectada muchas veces por golpes, cortes o heridas; cuando existe daño mecánico en la superficie de la hortaliza y esta está en contacto con el aire se produce rápidamente pardeamiento que se debe fundamentalmente a la oxidación enzimática de los fenoles. Las enzimas que catalizan la oxidación de los fenoles se los conoce con los nombres de fenolasas, polifenoloxidasas, tirosinasas, ocatecolasas. El pardeamiento se genera cuando los tejidos de la hortaliza han sido dañados y se encuentran expuestos a oxígeno y cobre. (Fennema, 2000)

Las enzimas son proteínas, que por su poder de activación específica y de conversión de sustratos en productos, tienen una actividad catalítica. Las enzimas pueden ser controladas de distintas maneras ya que estas son muy importantes para la maduración de las hortalizas. (Fennema, 2000)

La polifenoloxidasas es uno de las enzimas con más manifiestos y esta se encuentra en concentraciones moderadas en la lechuga donde su acción es indeseable.

El efecto del pH predomina sobre la actividad de las enzimas, en la polifenoloxidasas se encuentra en concentraciones moderadas en los tejidos teniendo como rango óptimo de acción de 6.0 a 6.5 de pH. (Fennema, 2000). Sin embargo en la lechuga el rango óptimo de acción es de 5.0 a 8.0 con temperaturas de 24 a 35 °C sin procesar. (Heindal, Larse y Poll, 1994)

La acción de la polifenoloxidasas se cataliza en dos reacciones en cadena en presencia de oxígeno: da lugar a la hidroxilación de monofenoles en difenoles y consecutivamente, los difenoles dan lugar a las quinonas. Las oxidación enzimática de las quinonas forman las o-quinonas este es el primer producto de la oxidación enzimática, las o-quinonas son una reacción reversible en presencia de agentes reductores como la presencia de ácidos en especial del ácido ascórbico, esto da lugar a los o-difenoles incoloros, es irreversible la polimerización posterior (Mcevilly, et.al.1992)

El pardeamiento sigue una segunda fase no enzimática comenzando en las o-quinonas formadas, estas son moléculas muy reactivas, se combinan con grupos amino y/o sulfhidrilo de las proteínas y con azúcares reductores, formando polímeros de alto peso molecular con distintas coloraciones, llamadas melaninas dependiendo de los sustratos fenólicos y del pH. (Mcevilly et.al.1992)

El pardeamiento enzimático se lo puede vigilar de dos métodos: métodos físicos y métodos químicos, por lo general, se utilizan los dos métodos. Los métodos físicos que se utilizan son: la reducción de temperatura, reducción de oxígeno, uso de atmósferas modificadas, tratamientos con irradiación gama o altas presiones. Los métodos químicos

utilizados son: los que se utilizan compuestos que inhiban la polifenoloxidasas, compuestos que eliminen los sustratos como el oxígeno y los fenoles. (Morales, 2009)

El pardeamiento enzimático requiere elementos importantes :oxígeno, enzima, cobre ,y sustratos fenólicos, estos elementos establecen la velocidad de pardeamiento que puede darse rápidamente o en minutos, esta velocidad también depende de la actividad de polifenoloxidasas, el pH, la temperatura, la actividad de agua y sobre todo de la presencia de oxígeno en el medio del tejido vegetal. La prevención del pardeamiento es factible, a través de la eliminación de sustratos y/o inhibidores de enzimas.(Morales,2009)

Existen agentes antipardeamiento, estos son químicos entre esos tenemos: los acidulantes, agentes reductores, agentes complejantes, agentes quelantes, inhibidores de enzimas. Algunos de estos operan directamente como inhibidores de polifenoloxidasas, otros favorecen un medio inadecuado para el desarrollo del pardeamiento y otros reaccionan con productos de polifenoloxidasas antes que se formen pigmentos oscuros. (Morales, 2009)

Los acidulantes son agentes antipardeamiento que permiten bajar el pH; la acción de la polifenoloxidasas oscila entre ácido y neutro, teniendo en cuenta que la actividad de la polifenoloxidasas en vegetales es a un pH de 6.0 a 6.5 manifestando escasa actividad por debajo de un pH 4.5. (Morales, 2009)

El uso de agentes químicos, que bajan el pH del producto o acidulantes, se pueden emplear considerablemente para controlar el pardeamiento enzimático. El acidulante más utilizado como agente antipardeamiento es el ácido cítrico, los acidulantes generalmente se los utilizan en mezcla de otros agentes antipardeamiento, puesto que es difícil inhibir

completamente el pardeamiento exclusivamente con el control del pH, es por eso que es necesario combinar los agentes químicos con los agentes físicos. (Morales, 2009)

4.4.10 Conservación:

El objetivo principal de la conservación de los alimentos es suministrar seguridad, conservar la calidad, alargar la vida útil, evitar la modificación de los mismos. (Wiley, 1997)

Las hortalizas de hoja tienen una vida poscosecha muy corta, puesto que su tasa de respiración es alta y este es un factor limitante para la conservación. (Namesny, 1993)

La temperatura es un agente importante, puesto que interviene en las actividades enzimáticas, respiratorias y metabólicas, es muy importante el control de temperatura durante el almacenamiento de hortalizas, ya que esto puede inactivar o retardar defectos fisiológicos. (Wiley, 1997)

La lechuga no es apta para preservación en congelador, porque existen lesiones por frío que pueden afectar su apariencia y textura. (Suquilanda, 2003)

El daño por congelación ocurre cuando la lechuga está almacenada a menos de -0 a 2 °C, donde se evidencia un oscurecimiento o un área embebida de agua, por lo que se

vuelve un aspecto sucio y esto hace que se deteriore rápidamente o después de descongelarse. (Universidad de California Davis, 2003)

(Namesny, 1993), cita que la vida en poscosecha de la lechuga, está claramente relacionada con la temperatura de almacenamiento.

Tabla 4. Duración de la vida post- recolección de la lechuga en función de la temperatura de conservación

Almacenaje Días	1	2	4	6	8	10	12
Temperatura °C	20	16	8	4	2	1	0

FUENTE: WACQUANT LE BOHEC(1982)

Tabla 4

El etileno es una fitohormona que es el regulador natural del crecimiento de plantas sintetizadas por todas ellas y su función principal es la abscisión, esta también es muy importante para su desarrollo y da lugar a la senescencia de los tejidos, el etileno es muy importante para estudios de tecnología poscosecha, el etileno es un receptor el cual forma un complejo que desencadena en una serie de reacciones y estas dan una gran variedad de respuestas fisiológicas; la lechuga de hoja es enormemente sensible al etileno, y el síntoma más común es la pérdida de color verde por degradación de la clorofila. (Carvajal, 2007; Universidad de California, 2003)

Hay que evitar almacenar lechuga junto con manzanas, peras o plátanos. Estas frutas despiden gas etileno, un agente natural de maduración que hará desarrollar manchas marrones y pudriciones en la lechuga rápidamente. (Infoagro, 2011)

El envasado es muy importante ya que es una herramienta de protección, puesto que el envasado ayuda a disminuir pérdidas, deterioros y desperdicios, ayuda al almacenamiento y evitar la pérdida de la calidad del producto por contaminación microbiana. Estos factores satisfacen las necesidades de los consumidores a adquirir productos más sanos, seguros y de mejor calidad; los productos agrícolas y alimentarios pierden mucho por falta de envasado, ya que existen degradaciones físico-químicas que son el producto de pérdidas, perjudiciales para de la vida del hombre.

Cada día los consumidores exigen mayor calidad en los productos alimenticios, es por esto que las tendencias al consumo de alimentos frescos, comidas nutritivas y productos saludables, han llevado a los productores de alimentos a mejorar los productos con envases más llamativos y seguros, por lo que las empresas se han visto en la necesidad de desarrollar nuevas y mejores técnicas de envasado para la conservación de los productos, ya que con esto mejoran sus utilidades y dan un mejor servicio a los consumidores .

Los materiales de envasado cada día van mejorando por lo que podemos aproximarnos al envase deseado, es muy importante y efectivo tener una buena presentación del producto por eso es tan necesario e indispensable tener un envase adecuado para presentar al consumidor un producto llamativo y seguro.

En frutas y hortalizas existen muchas alteraciones como crecimiento microbiológico, magulladuras, condensación, acción de ciertos gases como el CO₂, fluctuación de temperatura, madurez, marchitez, y pardeamiento enzimático; el envasado de frutas y hortalizas está condicionada por la presencia de la respiración durante el almacenamiento, el envase debe permitir la respiración del producto para una maduración

segura, debe evitarse la producción de etileno, evitando la senescencia antes del transporte, el polietileno y polipropileno se utilizan en el envasado de hortalizas.(Shafiur Rahman, 2003)

El sistema de envasado en las lechugas debe ser con películas plásticas, bolsas de plástico, las bolsas de plástico den ser de polipropileno.(Namesny, 1993)

El plástico es el primer material que se utiliza como envase, el plástico es uno de los compuestos más complejos, en este grupo entra una extensa clasificación en estructuras rígidas y estructuras flexibles; en las estructuras flexibles entran las películas de plástico que se las puede utilizar en la fabricación de bolsas simples, estas películas plásticas deben tener un coeficiente de fricción lo suficientemente apropiado para deslizarse.(Shafiur Rahman, 2003)

Entre los principales plásticos utilizados está el polipropileno, es un monómero obtenido en 1954 por Guilio Natta por medio de la polimerización catalítica.(Shafiur Rahman, 2003)

El polipropileno posee una forma regular, a presión reducida en presencia de ciertos catalizadores, posee una alta cristalinidad, es duro y resistente al calor, tiene resistencia a la rotura al doblarse, resiste a los agentes químicos, permite propiedades de barrera anti-humedad, posee buenas características de termo sellado.(ShafiurRahman, 2003)

El polipropileno puede estirarse en su manufactura generando películas orientadas, de elevada claridad, fuerte y resistente al vapor de agua y gases. (Shafiur Rahman, 2003)

El almacenamiento es muy importante al igual que el envasado, ya que la frescura de los alimentos es un aspecto muy importante en la calidad y de esto es responsable el

almacenamiento los consumidores están dispuestos a pagar por productos de mejor calidad, se han realizado muchas aplicaciones de almacenamiento para mantener los alimentos frescos y seguros para el consumo de las personas, es muy indispensable el control de la cadena de distribución , desde el momento de la cosecha, procesamiento, envasado, almacenamiento, hasta la venta del producto final.(Shafiur Rahman, 2003)

En el almacenamiento es importante mencionar los siguientes factores: el tipo de producto, la temperatura de almacenamiento, la humedad relativa de almacenamiento, O₂, CO₂.(Shafiur Rahman, 2003)

Tabla 5. Condiciones De Almacenamiento Óptimas Para Hortalizas

Producto	Temperatura(°C)	Humedad Relativa (%)	O ₂ (%)	CO ₂ (%)	Potencial
Alcachofa	0-2	90	3-5	0-2	B
Apio	0-2	90-95	3-5	1-4	B
Brécol	0-1	90-95	2-3	8-12	A
Cebolla	0-2	70-80	1-4	2-5	B
Coles de Bruselas	0-1	90-95	2-4	4-6	A
Esparrago	0-2	95	10-15	7-12	A
Espinaca	0-2	95	21	10-20	B
Lechuga	0-4	90-95	2-3	2-5	B
Puerro	0-2	90-95	3-5	3-6	B
Repollo	0-1	95	2-3	3-6	A

Valores basados en los Proceedings 6th and 7th International Controlled Atmosphere Research Conferences (Ithaca 1993 y Davis 1997).Potencial; A= Excelente, B= Aceptable. Fuente: Manual de Conservación de los alimentos, (Shafiur Rahman,M,2003)

Tabla 5

4.4.11 Valor Nutricional.

Para aprovechar todo su valor nutritivo, la lechuga se debe comer en estado fresco

La lechuga es una hortaliza pobre en calorías, observando que las hojas exteriores son más ricas en vitamina C que las interiores.

Las pérdidas de valores nutricionales se dan por diferentes factores y procesos, el valor nutricional está estrechamente relacionado con la calidad, ya que existen degradaciones enzimáticas, oxidaciones y reacciones de oscurecimiento no enzimáticas. Se da también la producción y multiplicación de bacterias y pérdidas de vitaminas.(Artheyy y Dennis, 1992)

La inactivación de enzimas depende del tratamiento térmico que se aplique; en las hortalizas tienen pérdidas y cambios de calidad cuando han tenido cierto tratamiento mínimo como el lavado, pelado, troceado estos cambios se presentan con rapidez. (Artheyy y Dennis, 1992)

La vitamina C es una de las vitaminas que más sufre cambios o es más inestable que las otras vitaminas, esta vitamina suele ser indicador nutritivo de las hortalizas, las pérdidas en hortalizas de vitamina C aumentan cuando las hortalizas son troceadas mas no en las hortalizas enteras. Las bajas temperaturas retrasan las pérdidas de nutrientes y cambios metabólicos.(Artheyy Dennis, 1992)

La vitamina C es conocida también como ácido ascórbico, es un nutriente fundamental en la vida de los mamíferos para ciertas reacciones metabólicas, esta vitamina en los humanos sirve como antioxidante natural, la vitamina C es esencial para el desarrollo y mantenimiento del organismo y el consumo es necesario para mantener una excelente salud. (Calvo, 2000)

La vitamina C es sensible a las reacciones de oxidación, desgastándose con facilidad durante el procesado de los alimentos en presencia de oxígeno. La oxidación es dependiente del pH. Es necesario un pH alcalino que no se encuentra en los alimentos. (Calvo, 2000)

La vitamina C puede romperse también en reacciones no oxidativas, especialmente en medio ácido (entre pH 3 y 4), es importante en productos enlatados. La vitamina C es un potente agente reductor, capaz de reaccionar con el oxígeno, por lo que es utilizado como antioxidante. (Fennema, 2000)

La vitamina C se la utiliza como un ingrediente y aditivo en alimentos debido a sus propiedades antioxidantes y reductoras, inhibe eficazmente el pardeamiento enzimático, es un compuesto muy polar y es insoluble en aceites, es un antioxidante eficaz cuando se dispersa en aceites o en emulsiones. (Fennema, 2000)

Las principales fuentes de vitamina C son las frutas, las hortalizas y alimentos fortificados como cereales del desayuno, es altamente disponible para el hombre en frutas y hortalizas. (Fennema, 2000)

La lechuga es bajo en calorías, rica en agua y en sus hojas tiene vitamina C, la lechuga es muy importante para la digestión puesto que posee gran cantidad de fibra, cada variedad de lechuga tiene diferentes valores nutricionales, es por esto que se ha dividido su contenido nutricional en tablas diferentes iniciaremos con el contenido nutricional de la lechuga romana y después con la lechuga crespa

Los valores más determinantes en la lechuga romana son el agua que posee 94.6 g de agua en 100 g de lechuga, energía 17 Kcal, vitamina C 5.0 mg en 100 g de lechuga.

Los valores más determinantes en la lechuga crespa son el agua 94,89 g de agua en 100 g de lechuga, energía 15 Kcal, vitamina C 9.4 mg en 100 g de lechuga

Es notable la diferencia de nutrientes en cada variedad de lechuga a continuación las tablas con los valores nutricionales para cada variedad de lechuga.

Tabla 6. Valores Nutricionales de Lechuga Romana en 100g fresca

Nombre científico: *Lactuca sativa var. Logifolia*

NDB No: 11251

Nutriente	Unidad	Valor por 100 gramos	Error Std.
Agua	g	94.61	0.094
Energía	kcal	17	0.000
Proteína	g	1.23	0.043
Lípidos totales	g	0.30	0.017
Ceniza	g	0.58	0.015
Carbohidratos, por diferencia	g	3.29	0.000
Fibra , total	g	2.1	0.179
Minerales			
Calcio, Ca	mg	33	0.733
Potasio, K	mg	247	8.320
Vitaminas			
Vitamin C, total acido ascórbico	mg	4.7	0.401
beta Caroteno,	µg	5226	510.272
Vitamin K (phylloquinone)	µg	102.5	7.222

Fuente : USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010)

Tabla 6

Tabla 7. Valores Nutricionales de Lechuga Crespa 100 g fresca**Nombre científico:** *Lactuca sativa var. crispata***NDB No:** 11253

Nutriente	Unidades	Valor por 100 gramos	Error Std.
Agua	g	94.98	0.140
Energía	kcal	15	0.000
Proteína	g	1.36	0.059
Lípidos totales	g	0.15	0.015
Ceniza	g	0.62	0.044
Carbohidratos, por diferencia	g	2.87	0.000
Fibra total	g	1.3	0.019
Minerales			
Calcio, Ca	mg	36	2.118
Potasio, K	mg	194	10.367
Sodio, Na	mg	28	4.917
Vitaminas			
Vitamin C, total ácidoascorbico	mg	9.4	0.521
beta Caroteno	µg	4443	418.138
Vitamin K (phylloquinone)	µg	126.3	4.765

Fuente : USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010)

Tabla 7

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación

La presente investigación, se realizó en los meses de marzo, abril y mayo del año 2011, en la Planta Piloto, laboratorio de Análisis de Alimentos y laboratorio de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito, ubicada en la parroquia Cumbayá, cantón Quito, provincia de Pichincha. El cultivo y cosecha de lechuga de hoja se lo realizo en la parroquia Tumbaco, cantón Quito, provincia de Pichincha.

5.2 Características del Material Vegetal

Para efectos de este ensayo se utilizó lechugas de hojas (lechuga crespa y romana),

5.3 Características del Citrinal SF422

El Citrinal sf422 se adquirió de Chemical Pharrm.

Está compuesto por cuatro ácidos orgánicos de cadena larga los cuales ya mencione anteriormente, el Citrinal viene en diferentes presentaciones y volúmenes, este producto es tomado como un aditivo alimentario ya que tiene GRAS.

5.4 Materiales

5.4.1 Materiales para ensayos previos a realizar métodos analíticos

- Lechugas de hoja (romana y crespa)
- Citrinal SF 422

5.4.2 Materiales para la determinación de Vitamina C

- Acido Oxálico al 1%
- Diclorofenol Indofenol al 0.2%
- Erlenmeyer 250 ml
- Pipetas 10 ml
- Solución de ácido ascórbico (50 mg/250mL) en ácido oxálico al 1 %
- Vasos de precipitación
- Bureta de 25 ml

5.4.3 Materiales para la Determinación de coliformes Totales

- Placas petrifilm 3M
- Pipeta
- Probeta de 25 ml
- Fundas estériles
- Cuchillos de acero inoxidable estériles
- Agua peptonada al 0.1%
- 25 g de Muestra

5.4.4 Materiales para la Determinación de mesófilos Totales

- Placas petrifilm 3M
- Pipeta
- Probeta de 25 ml
- Fundas estériles

- Cuchillos de acero inoxidable
- Agua peptonada al 0.1 %
- 25 g de muestra

5.4.5 Materiales para la Determinación de mohos

- Placas petrifilm 3M
- Pipeta
- Probeta de 25 ml
- Fundas estériles
- Cuchillos de acero inoxidable
- Agua peptonada al 0.1 %
- 25 g de muestra

5.5 Métodos

5.5.1 Métodos Previos a los Métodos Analíticos

Esta investigación consto de tres ensayos uno en el mes de marzo, y dos en el mes de abril, al realizar los tres ensayos fue para determinar las diferencias que se encuentran en las soluciones de Citrinal y cuál es su acción en las lechugas de hoja como antimicrobiano y como acidificante para evitar el pardeamiento enzimático en las lechugas de hojas.

Una vez cosechadas las dos variedades de lechugas de hojas (romana y crespa) tanto para el mes de marzo como para el mes de abril, se llevaron a la planta piloto de la Universidad San Francisco de Quito y se realizaron cortes en el tallo de las lechugas, se eliminaron las hojas exteriores que presentaron daños. El corte se lo realizaran con cuchillo de acero inoxidable.

Una vez cortada el tallo y eliminadas las hojas exteriores se procedió a realizar las soluciones de Citrinal SF422 en tres concentraciones teniendo siempre un testigo que en este caso es la concentración 1.(Ver TABLA 8)

Se procedió a sumergir las lechugas en la solución de Citrinal SF 422.

Luego de ser sumergidas las lechugas de hoja, se procedió a escurrir el agua. Luego de lo cual se colocaran las lechugas en fundas de polipropileno, se identificó cada funda con la fecha, concentración y variedad para luego almacenarlas en cámara de refrigeración a 4°C.

Después de haber realizado la aplicación de Citrinal en las lechugas de hoja, se procedió a realizar en el laboratorio de microbiología, los análisis microbiológicos en las dos variedades de lechuga con las diferentes concentraciones de Citrinal SF422 estos análisis se los realizo utilizando petrifilm 3M para mesófilos totales, coliformes totales y hongos. Se realizó tres repeticiones una en tiempo cero, otra a los 8 días y otra a los 16 días.

También se realizó con las dos variedades de lechuga con las diferentes concentraciones de Citrinal SF422, en el laboratorio de análisis de alimentos, la determinación de vitamina C teniendo en cuenta los datos de la tabla nutricional de las dos variedades de lechuga. Se realizaron tres repeticiones una a tiempo cero, otra a los 8 días y otra a los 16 días.

Una vez realizados todos los análisis se procedió a calcular el contenido de vitamina C en cada repetición, y el conteo microbiológico de mesófilos totales, coliformes totales y hongos.

Se registró los cambios y alteraciones que genera el Citrinal SF 422 en las lechugas de hoja.

Tabla 8. Concentraciones de Citrinal SF 422 en Agua para el Tratamiento de Lechuga de Hoja

Solución	Concentración de Citrinal SF 422 (ml) *	Cantidad de agua (litros)
Testigo	0	10
2	5	10
3	7,5	10
4	10	10

*disueltos en 10 litros de agua

Tabla 8

5.5.2 Métodos Analíticos

Se siguió el procedimiento utilizado en prácticas utilizadas en laboratorio teniendo como fuente el manual de laboratorio de Análisis de Alimentos

5.5.2.1 Análisis de Vitamina C Método (2,6Diclorofenol Indofenol)

Se realizó la estandarización de la solución de Diclorofenol Indofenol (DI) cuyo valor nos dio 0.9091, se pipeteo 10 ml de muestra en un erlenmeyer de 250 ml que contenía 50 ml de una solución de Ácido Oxálico al 1% , se tituló con una solución de 0.2% de Diclorofenol Indofenol hasta el punto de viraje, la coloración debía de persistir por 15 segundos , para la estandarización del Diclorofenol Indofenol se colocó en un

erlenmeyer de 250 ml ,10 ml de Ácido Ascórbico 50mg/250ml en Ácido Oxálico al 1% y se tituló con el Diclorofenol Indofenol al 0.2% hasta que persista una coloración rosada durante 15 segundos la titulación de estandarización fue de 2.2 ml de Diclorofenol Indofenol.

Se calculó el contenido de vitamina C de las muestras procesadas y se expresó el resultado en mg de Vitamina C en 100 g de muestra.

Se realizaron tres repeticiones una en tiempo cero, otra a los 8 días y la última repetición a los 16 días.

Se realizó 500 ml de ácido oxálico y 100 ml de Diclorofenol Indofenol

Los cálculos se los hizo de la siguiente manera:

Ácido Oxálico al 1%

Diclorofenol Indofenol (DI) al 0.2%

Solución de Ácido Ascórbico 50 mg / 50 ml

Titulación de estandarización de Diclorofenol Indofenol = 2.2 ml de Diclorofenol Indofenol

500 ml de Ácido Oxálico

100 ml de Diclorofenol Indofenol

50 mg	250 ml H ₂ O
X	50 ml de Ácido Oxálico al 1%
= 10 mg de Ácido Ascórbico en 50 ml de Ácido Oxálico al 1%	

Ácido Oxálico al 1%

1 gr de Ácido Oxálico	100 ml de H ₂ O
X	500 ml de H ₂ O
= 5 gr de Ácido Oxálico en 500 ml de H ₂ O	

10 mg de Ácido Ascórbico	50 ml de H ₂ O
X	10 ml de H ₂ O
= 2 mg de vitamina	

2.2 ml de Diclorofenol Indofenol	2 mg de Vitamina C
1 ml de Diclorofenol Indofenol	X
= 0.9091 mg de Vitamina C	

5.5.2.2 Análisis Microbiológicos Coliformes, Mesófilos Totales y Mohos

Se preparó agua peptonada al 0.1% , una vez preparada el agua peptonada se pesó 25 g de muestra, se colocó en 225 ml de agua peptonada y 25 g de muestra en una funda estéril, es necesario realizar diluciones para tener mejores resultados, una vez realizada las diluciones se procedió a homogenizar la muestra, después de homogenizada se procede a pipetear 1ml de la muestra homogenizada en las placas de Petrifilm, placas para hongos , placas para mesófilos, placas para coliformes, se coloca las placas de Petrifilm en una superficie plana, se levantó la lámina superior , se colocó la muestra en el centro de la película cuadriculada, una vez realizada esto se dejó 3 días en incubación y se realizó el conteo de mesófilos,coliformes y hongos.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL:

Se realizaron 3 experimentos bajo diferentes diseños experimentales, el primero con diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4x2, el segundo diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4x3 para lechuga romana y el último diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 3 para lechuga crespa, cada uno de estos se detallan a continuación

6.1 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2

El primer diseño experimental utilizado en este trabajo fue el Diseño Completamente Aleatorizado con arreglo factorial (4x2), ya que se utilizó 2 variedades de lechuga y 4 concentraciones diferentes de Citrinal disueltos en agua, obteniéndose 8 tratamientos cuyas combinaciones se muestran en la Tabla 12

Los factores dentro de este experimento fueron las concentraciones de Citrinal SF 422 y las variedades de lechuga (romana y crespa) (Tabla 9, Tabla 10). Las concentraciones de Citrinal SF422 (niveles) están mostradas en la Tabla 9 así como también en la Tabla 10 se muestra los niveles para las variedades de lechuga.

Las variables evaluadas dentro de este experimento fueron el contenido de vitamina C, conteo de mesófilos totales, conteo de coliformes totales y conteo de mohos. (Tabla 11). Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento (24 unidades experimentales) teniendo al tiempo de inmersión como constante.

Tabla 9.Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422)

Concentración	Concentración de Citrinal SF 422 (ml) *
1 (C1)	Testigo (0)
2(C2)	5
3 (C3)	7,5
4 (C4)	10

*disueltos en 10 litros de agua

Tabla 9**Tabla 10.** Factor B Variedades de Lechuga

variedad	Nombre de la lechuga
1 (V1)	Crespa
2 (V2)	Romana

Tabla 10**Tabla 11.** Variables

Variabes	Métodos	Especificaciones
Contenido de vitamina C	2,6Diclorofenol Indofenol	(romana más cercano a 4.3 mg) , (crespa más cercano a 9.4 mg)
conteo de mesofilos totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^4$
conteo de coliformes totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^2$
conteo de mohos	placas petrifilm	$\leq 10 - 10^2$

Tabla 11**Tabla 12.** Combinaciones de los factores A y B

Tratamientos $4 \times 2 = 8$	Combinaciones Concentración Vs Variedad
1	Concentración 1 Variedad 1 (C1V1)
2	Concentración 1 Variedad 2 (C1V2)
3	Concentración 2 Variedad 1 (C2V1)
4	Concentración 2 Variedad 2 (C2V2)
5	Concentración 3 Variedad 1 (C3V1)
6	Concentración 3 Variedad 2 (C3V2)
7	Concentración 4 Variedad 1 (C4V1)
8	Concentración 4 Variedad 2 (C4V2)

Tabla 12

La aleatorización de los tratamientos se pueden observar en los anexos

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las medias por la prueba de TUKEY al 5% de significancia.

Se escogió la concentración de Citrinal SF422 que permitió la mejor conservación de la lechuga de hoja, teniendo en cuenta las variedades de la lechuga, ya que cada una de las dos variedades presenta diferentes valores de vitamina C.

Adicionalmente se consideró el menor crecimiento de mesófilos, el menor crecimiento de coliformes y el menor crecimiento de mohos puesto que Citrinal SF 422 es un producto antimicrobiano.

6.2 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3

El segundo diseño experimental utilizado en este trabajo fue el Diseño Completamente Aleatorizado con arreglo factorial (4 x 3), ya que se utilizó 4 concentraciones diferentes de Citrinal disueltos en agua y 3 tiempos de almacenamiento. Se obtuvo un total de 12 tratamientos y como constante la lechuga romana.

Los factores dentro de este experimento fueron las concentraciones de Citrinal SF 422 y los tiempos de almacenamiento (0,8 y 16 días) (Tabla13, Tabla 14y Tabla 15).

Las variables evaluadas fueron el contenido de vitamina C, conteo de mesófilos totales, conteo de coliformes totales y conteo de mohos. (Tabla 15)

Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento.

En los anexos 2 al 5 se muestra las tablas de cada tratamiento con sus tres repeticiones y sus diferentes números aleatorios para todos los tratamientos, lo que demostró la secuencia que se siguió en el experimento.

Tabla 13. Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422)

Concentración	Concentración de Citrinal SF 422 (ml) *
1	Testigo (0)
2	5
3	7,5
4	10

*disueltos en 10 litros de agua

Tabla 13

Tabla 14.Factor B tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento	Días
1	0
2	8
3	16

Tabla 14

Tabla 15. Variables

Variables	Métodos	Especificaciones
Contenido de vitamina C	2,6Diclorofenol Indofenol	(romana más cercano a 4.3 mg)
conteo de mesofilos totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^4$
conteo de coliformes totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^2$
conteo de mohos	placas petrifilm	$\leq 10 - 10^2$

Tabla 15

Tabla 16. Combinaciones de los factores A y B

Tratamientos 4 x 3 = 12	Combinaciones Concentración Vs tiempo
1	Concentración 1 tiempo 1 (C1T1)
2	Concentración 1 tiempo 2 (C1T2)
3	Concentración 1 tiempo 3 (C2T3)
4	Concentración 2 tiempo 1 (C2T1)
5	Concentración 2 tiempo 2 (C2T2)
6	Concentración 2 tiempo 3 (C2T3)
7	Concentración 3 tiempo 1 (C3T1)
8	Concentración 3 tiempo 2 (C3T2)
9	Concentración 3 tiempo 3 (C3T3)
10	Concentración 4 tiempo 1 (C4T1)
11	Concentración 4 tiempo 2 (C4T2)
12	Concentración 4 tiempo 3 (C4T3)

Tabla 16

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las medias por la prueba de TUKEY al 5% de significancia.

Se escogió la concentración de Citrinal SF422 y el mejor tiempo que permitirá la mejor interacción de los ácidos en al pasar de los días, teniendo en cuenta las diferentes concentraciones.

6.3 DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3

El segundo diseño experimental utilizado en este trabajo fue el Diseño Completamente Aleatorizado con arreglo factorial (4 x 3), ya que se utilizó 4 concentraciones diferentes de Citrinal disueltos en agua y 3 tiempos de almacenamiento. Se obtuvo un total de 12 tratamientos y como constante la lechuga Crespa.

Los factores dentro de este experimento fueron las concentraciones de Citrinal SF 422 y los tiempos de almacenamiento (0,8 y 16 días) (Tabla13,Tabla 14y Tabla 15).

Las variables evaluadas fueron el contenido de vitamina C, conteo de mesófilos totales, conteo de coliformes totales y conteo de mohos. (Tabla 15)

Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento.

En los anexos 2 al 5 se muestra las tablas de cada tratamiento con sus tres repeticiones y sus diferentes números aleatorios para todos los tratamientos, lo que demostró la secuencia que se siguió en el experimento.

Tabla 17. Factor A (Concentraciones de Citrinal SF 422)

Concentración	Concentración de Citrinal SF 422 (ml) *
1	Testigo (0)
2	5
3	7,5
4	10

*disueltos en 10 litros de agua

Tabla 17

Tabla 18.Factor B tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento	Días
1	0
2	8
3	16

Tabla 18

Tabla 19. Variables

Variables	Métodos	Especificaciones
Contenido de vitamina C	2,6Diclorofenol Indofenol	(crespa más cercano a 9.4 mg)
conteo de mesofilos totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^4$
conteo de coliformes totales	placas petrifilm	$\leq 1 \times 10^2$
conteo de mohos	placas petrifilm	$\leq 10 - 10^2$

Tabla 19

Tabla 20. Combinaciones de los factores A y B

Tratamientos 4 x 3 = 12	Combinaciones Concentración Vs tiempo
1	Concentración 1 tiempo 1 (C1T1)
2	Concentración 1 tiempo 2 (C1T2)
3	Concentración 1 tiempo 3 (C2T3)
4	Concentración 2 tiempo 1 (C2T1)
5	Concentración 2 tiempo 2 (C2T2)
6	Concentración 2 tiempo 3 (C2T3)
7	Concentración 3 tiempo 1 (C3T1)
8	Concentración 3 tiempo 2 (C3T2)
9	Concentración 3 tiempo 3 (C3T3)
10	Concentración 4 tiempo 1 (C4T1)
11	Concentración 4 tiempo 2 (C4T2)
12	Concentración 4 tiempo 3 (C4T3)

Tabla 20

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las medias por la prueba de TUKEY al 5% de significancia.

Se escogió la concentración de Citrinal SF422 y el mejor tiempo que permitirá la mejor interacción de los ácidos en al pasar de los días, teniendo en cuenta las diferentes concentraciones.

7. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Resultados de los Experimentos

Las 3 repeticiones fueron realizadas en 3 días diferentes, la primera a día cero, la segunda a los 8 días, y la última a los 16 días. En cada uno de los tratamientos aleatorizados y en cada diseño experimental realizado.

7.2 Análisis de Vitamina C

El análisis estadístico para la variable vitamina C fueron realizados en tiempo Cero, ocho días y dieciséis días, determino con un error del 5% que existen diferencia significativa entre las diferentes variedades de lechuga (romana y crespa)en presencia de Citrinal.

El contenido de vitamina C en la lechuga crespa fue de 9.4 mg por cada 100 g de lechuga fresca tal como se cita en la Tabla 6 y el contenido de vitamina C en la lechuga romana fue de 4.7 mg por cada 100 g de lechuga fresca tal como se cita en la Tabla 7.La mejor concentración de vitamina C se determinó tomando como referencia estos valores.

7.2.1 DISEÑO EXPERIMENTALCOMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2 VITAMINA C

Tabla 21. Análisis de Varianza (ANOVA) de la Concentración de Vitamina C factorial 4X2 en los tratamientos (concentración vsvariedad de lechuga)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	23	133,65			
(TRATAMIENTOS)	7	133,07	19,01	475,25 *	2,66
A: concentración de Citrinal	3	0,79	0,26	6,5 *	4,49
B: variedad	1	131,51	131,51	3287,75 *	3,24
Interacción AB	3	0,77	0,26	6,5 *	3,24
ERROR EXP	16	0,58	0,04		

*significativa al 5% de probabilidad por la prueba de F

$$CV = (\sqrt{0,04} / 6,56) * 100$$

$$CV = 3,04\%$$

Tabla 21

En el ANOVA (Tabla 21) se puede observar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores de concentración de Citrinal, variedad de

lechuga y la interacción de los anteriores afecta significativamente al contenido de vitamina C

Beltrán et al. (2005) citan en su artículo, que la vitamina C disminuye su concentración a medida que interactúan con ácidos orgánicos, es por esto que la interacción con los ácidos orgánicos presentes en el Citrinal bajan la concentración de vitamina C, a pesar que la vitamina C o ácido ascórbico es utilizado como antioxidante para evitar el pardeamiento enzimático.

Se puede evidenciar que la mayor disminución es en la concentración 4 y en la variedad 1 ya que en esta combinación existe mayor cantidad de ácidos orgánicos pero esta característica se presenta solo en la lechuga crespa ya que su disminución de vitamina es mayor que la disminución de vitamina C en la lechuga romana, esta mantiene su contenido de vitamina C con una leve disminución de concentración de vitamina C. En todas las concentraciones no sobrepasan de los 4,7 mg de vitamina C, observar que en esta concentración con la lechuga romana va disminuyendo gradualmente

En el ANOVA todos los factores e interpretaciones son significativas ya que los valores son superiores al F esp.

Es por esta razón que al realizar la diferencia de medias que se muestran en la tabla 24 produjo como resultado que los tratamientos 1 y 5 fueron estadísticamente diferentes del resto. Por lo tanto los tratamientos 1 y 5 fueron los mejores valores puesto que se acercan al valor de 9,4 mg de vitamina C que es el valor de vitamina C a tiempo cero en el caso de la lechuga crespa.

Estos dos tratamientos son los ideales a utilizar para que no haya disminución de vitamina C y no se vea afectado el valor nutricional en la lechuga crespa.

Los tratamientos 2, 4, 6 y 8 fueron estadísticamente iguales (Tabla 24). Los tratamientos 2 y 4 fueron los de mayor valor y se acercan al valor de 4.7 mg de vitamina C que es el de lechuga fresca romana.

En el caso de la lechuga cresa se observó que los tratamientos 1 y 5 son iguales entre sí y presentan los mayores valores de vitamina C. Estas a su vez son los tratamientos con contenido de vitamina C más similares al del control (9.4 mg de vitamina C)

TUKEY para vitamina C (concentración vs variedad de lechuga):

$$T = Q_{(0.05;8;16)}(S_Y)$$

$$Q_{(0.05;8;16)} = 4,897 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_Y = \sqrt{0,04/3} = 0.114$$

$$T = 4.8970 * (0.114) = 0.558$$

Tabla 22. Diferencia de medias

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
V2C3	6	4,15	C
V2C2	8	4,19	C
V2C4	4	4,23	C
V2C1	2	4,29	C
V1C4	7	8,51	B
V1C2	3	8,57	B
V1C1	1	9,2	A
V1C3	5	9,3	A

*letras diferentes indican diferencia estadística significativa

Tabla 22

7.2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3 (LECHUGA ROMANA) Para análisis de Vitamina C

Tabla 23. Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	1,00			
(TRATAMIENTOS)	11	0,21	0,02	0,57 ^{NS}	2,22
A:Concentracion	3	0,09	0,03	0,95 ^{NS}	3,4
B:tiempo	2	0,37	0,19	5,58 ^{**}	3,01
Interacción AB	6	0,02	0,00	0,08 ^{NS}	2,51
ERROR EXP	24	0,80	0,03		

*= significativas al 5% de probabilidad por la prueba F

NS = No significativa al 5% de probabilidad por prueba de F

CV= $(\sqrt{0,04 / 13,1}) * 100$

CV=1,52%

Tabla 23

En el ANOVA (Tabla 23) se puede observar que no existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores de concentración de Citrinal y la interacción de los anteriores no afecta significativamente al contenido de vitamina C. existió diferencia significativa con respecto al tiempo.

7.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3 (LECHUGACRESPA) Para análisis de Vitamina C

Tabla 25. Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	2,30			
(TRATAMIENTOS)	11	0,52	0,05	0,64 ^{NS}	2,22
A:Concentracion	3	0,04	0,01	0,20 ^{NS}	3,4
B:tiempo	2	0,37	0,19	2,50 ^{NS}	3,01
Interacción AB	6	0,26	0,04	0,57 ^{NS}	2,51
ERROR EXP	24	1,78	0,07		

NS = No significativa al 5% de probabilidad por prueba de F

$$CV = (\sqrt{0,07} / 9,34) * 100$$

$$CV = 2,83\%$$

Tabla 24

En el ANOVA (Tabla 25) se puede observar que no existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores de concentración de Citrinal, tiempo de almacenamiento y la interacción de los anteriores no afecta significativamente al contenido de vitamina C.

7.3 Recuento de Mesófilos Totales

Los mesófilos son bacterias que están presente en los alimentos, los cuales crecen a temperatura ambiente, por lo tanto estas bacterias van afectar la calidad de la lechuga de hoja.

El recuento de mesófilos totales es también denominado recuento total de bacterias, esto es muestra como un indicador de calidad o presencia de bacterias patógenas.

Los ácidos orgánicos ayudan a la inhibición de bacterias patógenas o de mesófilos.

Las bacterias mesófilas están presentes en las hojas de la lechuga, estas bacterias son la *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Lactobacillos* y *Streptococos*. Las bacterias mesófilas crecen con mayor rapidez a una escala de pH comprendida entre los valores de 6 y 8.

Después de 0, 8 y 16 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración se puede observar un número menor de 10^4 UFC/ g. (Norma Peruana para frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y /o precocidas), refrigeradas y/ o congeladas), Adams y Moss (1997)

Adams y Moss(1997) citan que durante la manipulación de los alimentos puede haber contaminación y producir enfermedades como la Hepatitis o Gastroenteritis en las personas que las consumen.

7.3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2 para recuento de mesofilos totales

Tabla 26. Análisis de varianza (ANOVA) para los tratamientos (concentración vs variedad)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	23	3530052433,33			
(TRATAMIENTOS)	7	3522507366,67	503215338,10	1067,11*	2,66
A: Concentración de Citrinal	3	2870234550,00	956744850,00	2028,86*	3,24
B: variedad	1	174312600,00	174312600,00	369,65*	4,49
Interacción AB	3	477960216,67	159320072,22	337,85*	3,24
ERROR EXP	16	7545066,67	471566,67		

*= significativas de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{471566,67/13403,33}) * 100$$

$$CV = 5,12\%$$

Tabla 25

En el ANOVA(Tabla 26)se puede observar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores de concentración de Citrinal, variedad de lechuga y la interacción de los anteriores afecta significativamente al recuento de mesófilos totales.

Al realizar las diferencias de medias que se muestran en la Tabla 27 y de acuerdo a La Norma Peruana para frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o congeladas, cita que la cantidad permitida en estas hortalizas es 1×10^4 . se rechazolos tratamientos 1,2, 5 y 6 ya que son mayores a 10^4 UFC y los tratamientos 3, 4, 8 y 7 fueron aceptados

TUKEY para recuento de mesófilos totales(concentración de Citrinal vs variedad)

$$T=Q_{(0.05;8;16)}(S_Y)$$

$$Q_{(0.05;8;16)}= 4,897 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_y= \sqrt{471566.67/3}= 396.4$$

$$T= 4.897*(396.47)=1941.514$$

Tabla 27. Diferencia de medias(concentración de Citrinal vs variedad)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
V1C4	7	1433,33	E
V2C4	8	2685	E
V2C2	4	6683,33	D
V1C2	3	7225	D
V1C3	5	13625	C
V2C3	6	13666,67	C
V1C1	1	20550	B
V2C1	2	41385,33	A

*letras diferentes indican diferencia estadística significativa

Tabla 26

Al momento de realizar la prueba de Tukey con la diferencia de medias los tratamientos 7 y 8 fueron iguales entre sí pero diferentes del resto y estos poseen la menor cantidad de bacterias mesófilas, y por lo tanto fueron las mejores.

La acción de los compuestos antimicrobianos depende del pH. Son más efectivos los antimicrobianos que contengan mayor concentración de ácidos.

Según la especificación de la norma peruana para contenido de mesófilos los mejores tratamientos fueron el 7 y el 8.

La lechuga romana ha sido relacionada con infecciones por *salmonella* y un brote de *shigelosis*. Esto ha sido atribuido a la comercialización de lechuga troceada lo que da como resultado una contaminación directa.

Las bacterias mesófilas crecen a temperatura de más 5° C y menos 100° C, las bacterias que corresponden al grupo de las bacterias mesófilas son los *bacillus* y el *clostridium*.

Adams y Moss (1997) cita que la cantidad de bacterias mesófilas permitidas en las hortalizas deben tener un número de colonias de 1×10^4 UFC/g, si estas bacterias alcanzan cifras más altas a las permitidas, estas pueden ser responsables de producción de olores desagradables y responsables de alteración en la calidad de las hortalizas.

7.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3(LECHUGA ROMANA) Para recuento de mesófilos totales

Tabla 28. Análisis de Varianza (ANOVA) para los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	17990393161,0			
(TRATAMIENTOS)	11	17795779677,0	1617798152,5	199,51*	2,22
A:concentración de Citrinal	3	17725826804,97	5908608934,99	728,66*	3,01
B:tiempo	2	542388,22	271194,1	0,03 ^{ns}	3,4
Interacción AB	6	69410483,78	11568413,96	1,43 ^{ns}	2,51
ERROR EXP	24	194613484,00	8108895,17		

*= significativa al 5% de probabilidad por la prueba F

ns= no significativa al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{8108895177/26951,5}) * 100$$

$$CV = 10.56\%$$

Tabla 27

En el ANOVA (Tabla 39) se puede observar que existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, el factor de concentración de Citrinal, afectan significativamente al recuento de mesófilos totales.

Los resultados de la tabla 40 muestran que los tratamientos 5, 9, 1,3 8, 7, 10, 2 y 6 son mayores a 1×10^4 UFC por lo que se rechaza estos tratamientos ya que no cumplieron con la norma. Los tratamientos 8,4 y 12 son estadísticamente diferentes del resto y son aceptables para nuestro objetivo final que es la inhibición de bacterias patógenas.

El coeficiente de variación fue relativamente alto ya que existió una variabilidad muestral de la distribución de los datos puesto que la toma de datos fueron realizados en días diferentes y las condiciones de ambiente fueron diferentes por lo que esto al ser una condición externa incrementa el error experimental.

TUKEY para mesófilos(concentración de Citrinal vs tiempo):

$$T=Q_{(0.05;12;24)}(S_Y)$$

$Q_{(0.05;12;24)}= 5.099 =$ Valor obtenido de la tabla de *Rango Estudentizado*

$$S_y = \sqrt{\frac{8108895,17}{3}} = 1644,06$$

$$T=5.099*(1644,06) =8383,062$$

Tabla 29.Diferencia de medias (concentración vs tiempo de almacenamiento)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T2C4	8	3088,3	D
T1C4	4	4185	D
T3C4	12	4316,3	D
T2C2	6	13234,33	C
T1C2	2	13445	C
T3C2	10	14461	C
T2C3	7	26329,7	B
T2C4	8	27589,33	B
T1C3	3	29401,67	B
T1C1	1	60130	A
T3C1	9	61537	A
T2C1	5	65700	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 28

7.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3(LECHUGA CRESPA) Para recuento de mesófilos totales

Tabla 30. Análisis de Varianza (ANOVA) para los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	8302203556,00			
(TRATAMIENTOS)	11	17433786329,33	1584889666,30	291,92*	2,22
A:Concentracion	3	17384920041,11	5794973347,04	1067,39*	3,4
B:tiempo	2	11403,17	5701,58	0,00 ^{NS}	3,01
Interacción AB	6	48854885,06	8142480,84	1,50 ^{NS}	2,51
ERROR EXP	24	130299014,67	5429125,61		

*= significativa al 5% de probabilidad por la prueba F

ns= no significativa al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{5429125/26805}) * 100$$

$$CV = 8.69\%$$

Tabla 29

En el ANOVA (Tabla 30) se puede observar que existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, el factor de concentración de Citrinal, afectan significativamente al recuento de mesófilos totales. No existió diferencia estadística significativa entre el tiempo y la interacción de los tratamientos por lo que no afectaron significativamente al recuento de mesófilos totales.

Los resultados de la tabla 40 muestran que los tratamientos 5, 9, 1, 3, 8, 7, 10, 2 y 6 son mayores a 1×10^4 UFC por lo que se rechaza estos tratamientos ya que no cumplieron con la norma. Los tratamientos 8, 4 y 12 son estadísticamente diferentes del resto y son aceptables para nuestro objetivo final que es la inhibición de bacterias patógenas.

El coeficiente de variación fue relativamente alto ya que existió una variabilidad muestral de la distribución de los datos puesto que la toma de datos fueron realizados en

días diferentes y las condiciones de ambiente fueron diferentes por lo que esto al ser una condición externa incrementa el error experimental.

TUKEY para mesófilos(concentración de Citrinal vs tiempo):

$$T=Q_{(0.05;12;24)}(S_Y)$$

$Q_{(0.05;12;24)}= 5.099 =$ Valor obtenido de la tabla de *Rango Estudentizado*

$$S_y = \sqrt{\frac{5429125,61}{3}} = 1345.25$$

$$T=5.099*(1345.25) =6859.45$$

Tabla 31.Diferencia de medias (concentración vs tiempo de almacenamiento)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T2C4	8	3390	D
T1C4	4	3773	D
T3C4	12	4299	D
T2C2	6	13172	C
T2C4	8	13445	C
T3C2	10	14603	C
T2C3	7	26650	B
T3C3	11	26654	B
T1C3	3	29881	B
T1C1	1	60268	A
T3C1	9	61566	A
T2C1	5	64034	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 30

7.4 Recuento de Coliformes Totales

Las bacterias coliformes son bacterias que están presentes en aguas residuales o en agua de riego, por lo tanto estas bacterias coliformes pueden causar un deterioro de la calidad de la lechuga y enfermedades graves como gastroenteritis.

Las bacterias coliformes son responsables de muchas intoxicaciones alimentarias, estas bacterias están relacionadas con la *Escherichia coli*. Palacios (2001) cita que las bacterias coliformes están presentes en los intestinos de los humanos y en animales, estas bacterias se introducen en la lechuga por medio de agua de riego con residuo de heces humanas o de animales. El grupo que forman las bacterias coliformes son *Escherichia*, *klebsiella*, *enterobacteriaerogenes*, *citrobactere*. El recuento de bacterias coliformes es utilizado como criterio de sanitización.

La norma peruana nos dice que para hortalizas en refrigeración se recomienda una cantidad máxima de UFC de 1×10^2 .

No se encontró *E.coli* en ninguna de las dos variedades de lechuga por lo que no hubo contaminación con heces fecales. Pero puede haber la presencia de alguna enterobacteria.

7.4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2 para recuento de coliformes totales

Tabla 32. Análisis de varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs variedad)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	23	7855359,00			
(TRATAMIENTO)	7	7744746,00	1106392,29	109,790*	2,66
A: Concentración de Citrinal	3	3522926,67	1174308,89	116,53*	4,49
B: variedad	1	3331640,17	3331640,17	330,61*	3,24
Interacción AB	3	890179,17	296726,39	29,44*	3,24
ERROR EXP	16	161238,00	10077,38		

*= significativas al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{10011,4} / 619) * 100$$

$$CV = 16,16\%$$

Tabla 31

En el ANOVA (Tabla 32) se puede observar que si existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores concentración de Citrinal, variedad de lechuga y la interacción entre los anteriores, afectaron significativamente al recuento de coliformes totales.

TUKEY para recuento de coliformes totales (concentración vs variedad)

$$T = Q_{(0.05;8;16)}(S_Y)$$

$$Q_{(0.05;8;16)} = 4,897 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_Y = \sqrt{\frac{10011,39}{3}} = 33,35$$

$$T = 4,897 * (33,35) = 163,31$$

Tabla 33.Diferencia de medias

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
V2C2	4	38,67	E
V2C4	8	56	E
V1C4	7	151,33	D
V2C3	6	231,67	D
V2C1	2	659,33	C
V1C3	5	1051,67	B
V1C1	1	1060	B
V1C2	3	2008,33	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 32

Se realizó un análisis estadístico con la prueba de TUKEY al 5% y se encontró que los tratamientos 4 y 8 cumplen con la Norma Peruana que da un valor máximo de 1×10^2

Palacios Blanco (2001). Cita que los géneros de salmonella en la lechuga son los causantes de infecciones intestinales, estos microorganismos se encuentran en el sistema digestivo que contaminan el ambiente y contaminan el agua que es la que sirve de riego para las hortalizas.

Es por esto que es importante que se utilicen concentraciones altas de ácidos orgánicos para inhibir el crecimiento de coliformes presentes en el agua de riego, al momento de realizar los tratamientos con Citrinal a diferentes concentraciones en la lechuga crespa esta va a tener mejores resultados de disminución de crecimiento de bacterias coliformes en concentraciones altas como es la concentración 4 y la concentración 2

El pH es muy importante para la conservación de los alimentos ya que al bajar el pH esto va a generar un descenso de crecimiento microbiano. Al momento de utilizar el Citrinal como antimicrobiano se realizó una acidificación del agua para tratar a la lechuga cresspa, es decir se bajó el pH del agua por lo que mientras más acida es el agua menor va a ser el crecimiento de bacterias coliformes.

La presencia de bacterias patógenas en el agua de riego en la lechuga es una contaminación total (Melloulet. al., 2001),

El crecimiento de coliformes en lechuga depende del tiempo del año, la lluvia y el riego (Fonseca,2006)

En bacterias coliformes es permitido el número de colonias hasta 1×10^2 , en los tratamientos de descontaminación es muy importante el uso de antimicrobianos como la utilización de ácidos orgánicos esto ayuda notablemente a disminuir el crecimiento de bacterias coliformes(Hasan YKrank, 2004).

El coeficiente de variación fue alto debido a la dispersión exponencial de las bacterias, y existió una alta variabilidad de los resultados en las unidades experimentales y esto incrementa el error con respecto a la media del experimento ya que existieron condiciones ambientales que afectaron la medición de esta variable.

7.4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3(LECHUGA ROMANA) Para recuento de Coliformes totales

Tabla 34. Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	22320341,6			
(TRATAMIENTO)	11	22282373,6	2025670,3	1280,45*	2,22
A:Concentracion de Citrinal	3	21829931,64	7276643,88	4599,65*	3,01
B: tiempo	2	103321,06	51660,5	32,66*	3,4
Interacción AB	6	349120,94	58186,82	36,78*	2,51
ERROR EXP	24	37968,00	1582,00		

*= significativas de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{1582} / 1274,8) * 100$$

$$CV = 3,12\%$$

Tabla 33

En el ANOVA (Tabla 34) se puede observar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores tiempo, concentración de Citrinal y la interacción entre los anteriores, afectaron significativamente al recuento de coliformes totales.

TUKEY para coliformes(tiempo vs concentración):

$$T = Q_{(0.05;12;24)}(S_y)$$

$$Q_{(0.05;12;24)} = 5.099 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{1582}{3}} = 22.96$$

$$T = 5,099 * (22,96) = 117,073$$

Tabla 35. Diferencia de medias (concentración vs tiempo):

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T1C4	4	167,33	C
T2C4	8	170,7	C
T3C4	12	208	C
T2C2	6	1018,67	C
T1C2	2	1088,67	CB
T3C2	10	1158,33	B
T1C3	3	1178,33	B
T2C3	7	1612	B
T2C3	11	1647,33	A
T2C1	5	2312	A
T3C1	9	2340,67	A
T1C1	1	2395,67	A

*letras diferentes indican diferencia estadística significativa

Tabla 34

Ningún tratamiento cumple con la Norma peruana tiene que existir una cantidad máxima de bacterias de 1×10^2 por lo que todos los tratamientos se rechazan.

7.4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3 (LECHUGA CRESPA) Para recuento de Coliformes totales

Tabla 36. Análisis de Varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	23328601,89			
(TRATAMIENTOS)	11	22809307,89	2073573,44	958,34*	2,22
A:Concentracion	3	22321785,89	7440595,30	3438,79*	3,4
B:tiempo	2	88490,39	44245,19	20,45*	3,01
Interacción AB	6	399031,61	66505,27	30,74*	2,51
ERROR EXP	24	51929,40	2163,73		

*= significativas de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{2163.73} / 1298,06) * 100$$

$$CV = 3,58\%$$

Tabla 35

En el ANOVA (Tabla 36) se puede observar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores tiempo, concentración de Citrinal y la interacción entre los anteriores, afectaron significativamente al recuento de coliformes totales.

TUKEY para coliformes(tiempo vs concentración):

$$T=Q_{(0.05;12;24)}(S_Y)$$

$Q_{(0.05;12;24)} = 5.099 =$ Valor obtenido de la tabla de *Rango Estudentizado*

$$S_y = \sqrt{\frac{2163.73}{3}} = 26.85$$

$$T = 5,099 * (26.85) = 117,073$$

Tabla 37. Diferencia de medias (concentración vs tiempo):

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T1C4	8	171	C
T3C4	12	173	C
T3C4	4	203	C
T2C2	6	1026	C
T3C2	10	1199	CB
T1C3	3	1253	B
T1C2	2	1315	B
T2C3	7	1514	B
T2C3	11	1533	A
T2C1	5	2200	A
T3C1	9	2410	A
T1C1	1	2575	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 36

Ningún tratamiento cumplió con la Norma peruana tiene que existir una cantidad máxima de bacterias de 1×10^2 por lo que todos los tratamientos fueron rechazados.

7.5 Recuento de Mohos

Los mohos están presentes en el ambiente en especial en hortalizas o en medios húmedos, existen hongos que poseen toxinas y estas toxinas pueden ocasionar serios problemas de salud o de trastornos en el sistema nervioso central.

Existen hongos que seguramente se han adaptado tanto morfológica como fisiológicamente, los principales hongos son los *ascomicetos*, *bacilomisetos*. Los hongos en el agua está relacionada con los cultivos de riego, entre los hongos se encuentra la *Botrytis cinerea*, este es un hongo patógeno relativamente débil en los vegetales, al contrario del *Aspergillus*, que produce un metabolito cancerígeno, puede causar graves trastornos neurológicos.

Los mohos son microorganismos que crecen en el ambiente y se proliferan con facilidad.

Valencia L A. (1995) cita que el moho *Bremia lactucaese* desarrolla en condiciones bajas de temperatura y alta humedad causando en la lechuga manchas verdes amarillentas esta enfermedad en la lechuga se llama Mildiu; otra enfermedad presente en la lechuga es la esclerotiniasis que es causada por el moho *Sclerotiniasclerotiorum*, que se presenta en épocas muy frías ya que este crece a temperatura baja y húmeda en la lechuga de hoja esto se presenta con un color amarillento y secado violento de hojas, se ve afectado en el cuello y raíz ; y se observa partes blanquecinas en las hojas.

Según la norma peruana para hortalizas, la máxima cantidad de mohos en las hortalizas debe oscilar entre 10^1 y 10^2 .

Por lo tanto es muy importante controlar los mohos ya que estos microorganismos pueden afectar la calidad del producto final.

7.5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2 para recuento de mohos

Tabla 38. Análisis de varianza (ANOVA) en los tratamientos (concentración de Citrinal vs variedad de lechuga)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	23	6595130,50			
(TRATAMIENTOS)	7	6526867,83	932409,69	218,55*	2,66
A:concentración de Citrinal	3	671648,83	223882,94	52,48*	3,24
B:variedad	1	4465162,67	4465162,67	1046,58*	4,49
Interacción AB	3	1390056,33	463352,11	108,60*	3,24
ERROR EXP	16	68262,67	4266,42		

*= significativas al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{4266,42/1065,75}) * 100$$

$$CV = 6,12\%$$

Tabla 37

En el ANOVA (Tabla 38) se puede observar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores variedad de lechuga, concentración de Citrinal y su interacción, afectaron significativamente al recuento de mohos.

TUKEY para recuento de mohos

$$T = Q_{(0,05;8;16)}(S_y)$$

$$Q_{(0,05;8;16)} = 4,897 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Studentizado}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{4266,42}{3}} = 37,71$$

$$T=4.8970*(37.71) =184.6$$

Tabla 39. Diferencia de medias(concentración vs variedad de lechuga)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
V2C1	2	377,67	D
V2C4	8	648,33	C
V2C2	4	661,67	C
V2C3	6	850	B
V1C4	7	955	B
V1C3	5	1330	A
V1C1	1	1833,33	A
V1C2	3	1870	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 38

De acuerdo a la Tabla 39 se rechazaron todos los tratamientos ya que no cumplen con la Norma peruana (máximo de mohos de 1×10^2).

Rodriguez-Palenzuela(2001) cita que adición de una pequeña cantidad de ácido en el agua produce una variación drástica en el pH y que esto puede ayudar a la eliminación de mohos, además de la presencia de agua en la superficie permite la presencia de mohos.

7.5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3(LECHUGA ROMANA) Para recuento de mohos

Tabla40. Análisis de Varianza (ANOVA) de los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

Fuentes de Variación	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	4749752,8			
(TRATAMIENTOS)	11	4736031,4	430548,3	753,07*	2,22
A:Concentracion de Citrinal	3	4425221,64	1475073,88	2580,05*	3,01
B:Tiempo	2	193540,67	96770,3	169,26*	3,4
Interacción AB	6	117269,11	19544,85	34,19*	2,51
ERROR EXP	24	13721,33	571,72		

*= significativas al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{2153,9/571,72}) * 100$$

$$CV = 1,10\%$$

Tabla 39

En el ANOVA (Tabla 40) se puede observar que existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores concentración de Citrinal, tiempo y su interacción afectaron significativamente al recuento de mohos.

TUKEY para mohos(tiempo vs concentración):

$$T = Q_{(0.05;12;24)}(S_Y)$$

$$Q_{(0.05;12;24)} = 5.099 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{571,72}{3}} = 13,8$$

$$T = 4.8970 * (13,8) = 67,57$$

Tabla 41. Diferencia de medias (concentración vs tiempo)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T2C4	8	1527	E
T1C4	4	1623	E
T3C4	12	1634,7	E
T2C1	5	2054	D
T2C3	7	2106	D
T3C3	11	2222	C
T1C3	3	2227,67	C
T1C1	1	2388	B
T3C1	9	2409	B
T1C2	2	2513,67	A
T2C2	6	2525,67	A
T3C2	10	2628	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 40

En la Tabla 41 se puede observar que ningún tratamiento cumplió con la Norma peruana (número máximo permitido de 10^{-2}). Por lo tanto, se rechazaron todos los tratamientos.

7.5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3(LECHUGA CRESPA) Para recuento de mohos

Tabla 42. Análisis de Varianza (ANOVA) de los tratamientos (concentración de Citrinal vs tiempo)

F de V	g.l	SC	CM	F cal	F esp
					0.05
TOTAL	35	4714878,89			
(TRATAM)	11	3885709,56	353246,32	102,25*	2,22
A:Concentracion	3	3442301,56	1147433,85	332,12*	3,4
B:tiempo	2	50760,39	25380,19	7,35*	3,01
AB	6	392647,61	65441,27	18,94*	2,51
ERROR EXP	24	82916,93	3454,87		

*= significativas al 5% de probabilidad por la prueba F

$$CV = (\sqrt{3454.87/2116.56}) * 100$$

$$CV = 2.77\%$$

Tabla 41

En el ANOVA (Tabla 42) se puede observar que existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los factores concentración de Citrinal, tiempo y su interacción afectó significativamente al recuento de mohos.

TUKEY para mohos(tiempo vs concentración):

$$T=Q_{(0.05;12;24)}(S_Y)$$

$$Q_{(0.05;12;24)}= 5.099 = \text{Valor obtenido de la tabla de } Rango \text{ Estudentizado}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{3454.87}{3}} = 39.93$$

$$T=4.8970*(39.93) = 166,18$$

Tabla 43. Diferencia de medias (concentración vs tiempo)

	Tratamientos	medias ordenadas	rangos de significancia*
T1C4	4	1625	E
T2C4	8	1623	E
T3C4	12	1646	E
T2C1	5	2025	D
T1C3	3	2127	D
T3C3	11	2222	C
T2C3	7	2229	C
T3C2	10	2232	B
T1C1	1	2366	B
T3C1	9	2388	A
T2C2	6	2491	A
T1C2	2	2518	A

***letras diferentes indican diferencia estadística significativa**

Tabla 42

En la Tabla 43 se puede observar que ningún tratamiento cumplió con la Norma peruana (número máximo permitido de 10^2). Por lo tanto, se rechazaron todos los tratamientos.

Tabla 44. TABLA DE PONDERACION DE DATOS (DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x2)

COLIFORMES	4
MESOFILOS	2
VITAMINA C	3
MOHOS	1

TRATAMIENTOS	COLIFORMES	VITAMINA C	MESOFILOS	MOHOS	TOTAL
(C3)	0	3	0	0	3
(C1)	0	3	0	0	3
(C4)	4	3	2	0	9
(C2)	4	0	0	0	4

En la tabla 44 se presentan los mejores tratamientos para vitamina C, coliformes, mesófilos totales y mohos se puede apreciar que la mejor concentración para vitamina C, mesófilos totales, coliformes totales es la concentración 4(10ml de Citrinal SF422 / 10 L de agua).

Tabla 44

Tabla 45 TABLA DE PONDERACION DE DATOS (DISEÑO EXPERIMENTAL COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3 para lechuga romana)

Tabla 45

COLIFORMES	4
MESOFILOS	2
VITAMINA C	3
MOHOS	1

TRATAMIENTOS	COLIFORMES	VITAMINA C	MESOFILOS	MOHOS	TOTAL
(T2C1)	0	3	0	0	3
(T2C4)	4	0	2	0	6

Se puede analizar en la tabla 45 que la mejor concentración para vitamina C, mesófilos totales, coliformes totales es la concentración 4(10ml de Citrinal SF422 / 10 L de agua) para un tiempo de almacenamiento de 8 días.

Tabla 46. TABLA DE PONDERACION DE DATOS (DISEÑO EXPERIMENTALCOMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA) con arreglo factorial 4x3 para lechuga crespa)

COLIFORMES	4
MESOFILOS	2
VITAMINA C	3
MOHOS	1

TRATAMIENTOS	COLIFORMES	VITAMINA C	MESOFILOS	MOHOS	TOTAL
(T2C1)	0	3	0	0	3
(T2C4)	4	0	2	0	6
(T3C4)	4	0	0	0	4

Se puede analizar en la tabla 45 que la mejor concentración para vitamina C, mesófilos totales , coliformes totales es la concentración 4 (10ml de Citrinal SF422 / 10 L de agua) para un tiempo de almacenamiento de 8 días.

Tabla 46

7.6 Análisis visual de pardeamiento enzimático

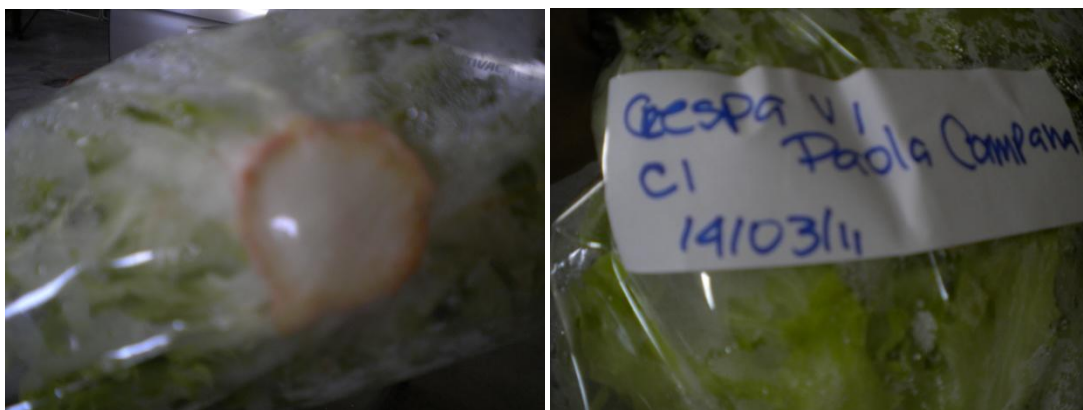
(López y Romero 2001) cita que para el control de pardeamiento enzimático en las lechugas de hoja se utilizan diferentes tipos de ácidos orgánicos, para que ocurra el oscurecimiento de la lechuga en su tallo es necesario la PPO activa, oxígeno y sustratos fenólicos, para la prevención del pardeamiento enzimático se utiliza agentes anti pardeamiento uno de estos son los ácidos orgánicos.

Los Acidulantes son agentes antipardeamiento, mientras se reporta un pH óptimo para la PPO este pH es entre ácido y neutro, en la mayoría de vegetales y en especial en la lechuga la PPO es óptima en un rango de pH de 6,0 a 6,5 y se detecta poca actividad en un pH de 4.5.La inactivación de la PPO se puede lograr a un pH de 3,5 o menor (Ricardos y Hyslop, 1984).

El uso de químicos que bajan el pH se pueden aplicar ampliamente para controlar el pardeamiento enzimático, el acidulante más utilizado es el ácido cítrico, este se lo utiliza en combinación de otros ácidos orgánicos (Morales 2001

7.6.1 Fotografías de Lechugas a Tiempo Cero

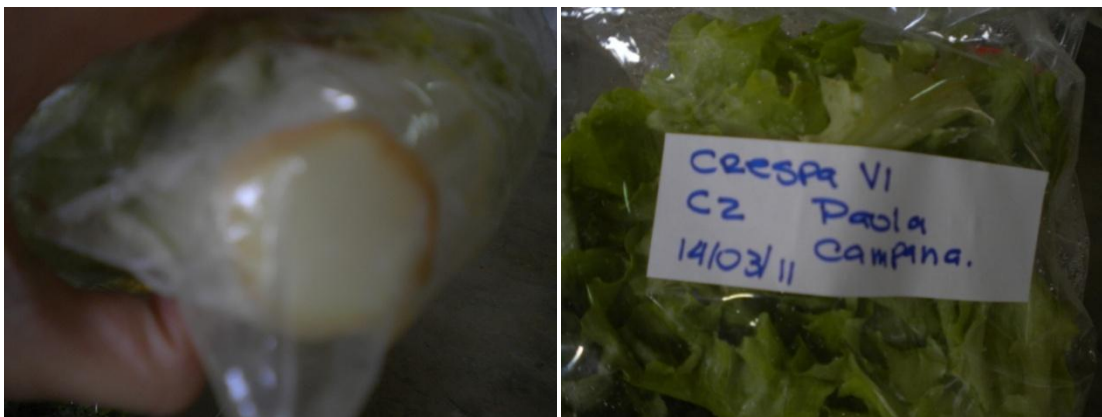
Fotografía 1. Lechuga Crespa Concentración 1 (Testigo) Tiempo Cero



Se puede determinar que la lechuga crespa sin ningún tratamiento ya posee pardeamiento en su tallo, este pardeamiento ocurrió después de 2 horas de recolección fotografía 1.

[fotografia1](#)

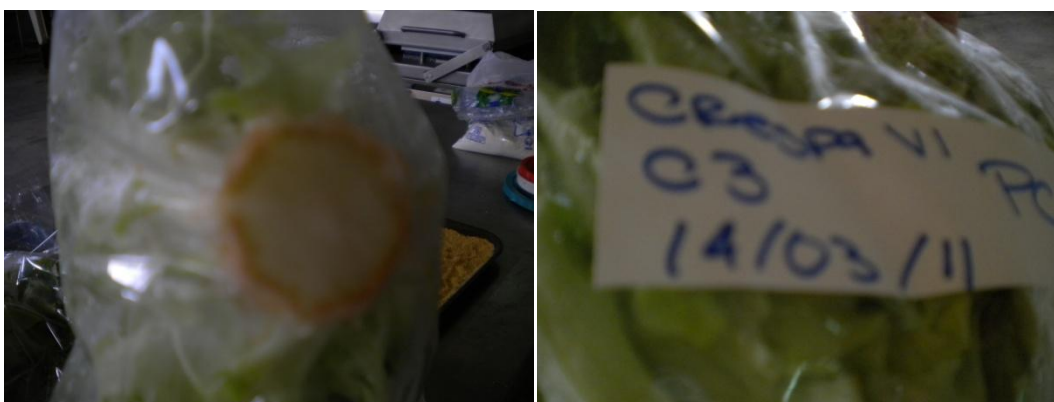
Fotografía 2. Lechuga Crespa Concentración 2 (5 ml de Citrinal en 10 litros de agua)



Se observa la fotografía 2 que la lechuga crespa con concentración 2 de Citrinal no presenta pardeamiento después de dos horas, por lo que se puede determinar que el tratamiento está dando resultados.

fotografia2

Fotografía 3. Lechuga Crespa Concentración 3 (7,5 ml de Citrinal en 10 litros de agua)



En la fotografía 3 podemos observar que para la concentración 3 existe un leve pardeamiento por lo que esta concentración no se la debe utilizar para evitar el pardeamiento enzimático.

También va a existir mayor número de bacterias y hongos, por lo que no se recomienda la utilización de esta concentración en esta variedad de lechuga de hoja

fotografia3

Fotografía 4. Lechuga Crespa Concentración 4 (10 ml de Citrinal en 10 litros de agua)



En la fotografía 4 es evidente que para la concentración 4 evita el oscurecimiento del tallo a las dos horas por lo que una pequeña adición de ácidos ayuda a disminuir el pH. Paralelamente esto va a reducir crecimiento de bacterias y mohos.

Es importante destacar que es la mejor concentración para evitar pardeamiento.

fotografia4

Fotografía 5. Lechuga Romana Concentracion 1 (TESTIGO)



En la fotografía 5 es evidente el pardeamiento de la lechuga romana ya que a las dos horas sin tratamiento alguno se evidencia un oscurecimiento en su tallo.

Es importante señalar que en esta variedad de lechuga el pardeamiento es mucho más rápido que en la lechuga cressa, además existe mayor crecimiento de bacterias.

[fotografia5](#)

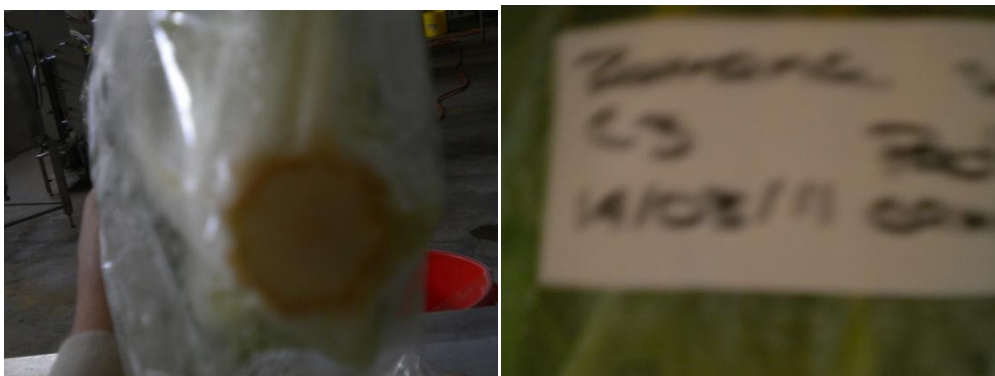
Fotografía6. Lechuga Romana Concentración 2(5ml de Citrinal en 10 litros de agua)



Se evidencia que no hay pardeamiento después de dos horas de tratamiento (fotografía 6). Se puede decir que la concentración 2 (5ml de Citrinal en 10 litros de agua) es buena para evitar el pardeamiento.

fotografia6

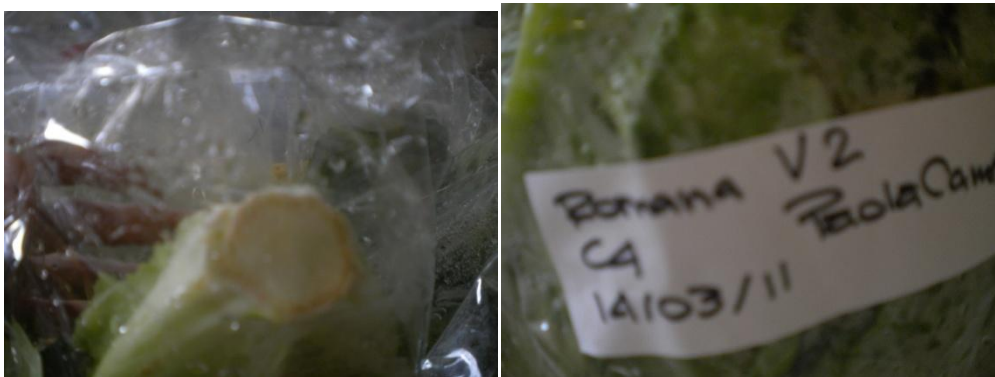
Fotografía 7. Lechuga Romana Concentración 3 (7,5 ml de Citrinal en 10 litros de agua)



En la fotografía 7 se evidencia un leve pardeamiento, después de dos horas de tratamiento por lo que no es recomendable utilizar esta concentración.

fotografia7

Fotografía 8. Lechuga Romana Concentración 4 (10 ml de Citrinal en 10 l de agua)



En la fotografía 8 se evidencia que la concentración 4 es la más adecuada ya que no se observan pardeamiento.

fotografía8

7.6.2 Fotografías de Lechugas a los 8 Días

Fotografía 9. Lechuga Crespa Concentración 1



A los 8 días después de iniciado los tratamientos se evidencia mayor pardeamiento en la lechuga sin ningún tratamiento en la fotografía 9 su brillo es menor y se evidencia un marchitamiento en sus hojas. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento va perdiendo la luminosidad, turgencia, brillo y el color verde se va haciendo más claro.

fotografía9

Fotografía 10. Lechuga Crespa Concentración 2



En la concentración 2 se evidencia un leve pardeamiento enzimático especial alrededor del tallo por lo que se puede decir que es una buena concentración para evitar el pardeamiento enzimático (fotografía 10). Las hojas de la lechuga presentan un brillo normal y su color verde es igual que al principio.

fotografía10

Fotografía 11. Lechuga Crespa Concentración 3



En el caso de la concentración 3 con la variedad de lechuga cresa se determina un pardeamiento mayor, además de marchitez en sus hojas y una cantidad mayor de hongos (fotografía 11). Esto se produce por que la acidez del agua es de 5 por lo que no va a evitar el pardeamiento enzimático.

fotografía11

Es necesario recalcar que esta concentración no es eficiente para el control del pardeamiento y mucho menos para la evitar el crecimiento de microorganismos patógenos.

Fotografía 12. Lechuga Crespa Concentración 4



La concentración 4 es la mejor ya que se evidencia una reducción de pardeamiento enzimático (fotografía 12) a los 8 días la lechuga conserva su brillo y no presenta ningún daño en sus hojas. Además se evita el crecimiento de bacterias patógenas.

[fotografía12](#)

Fotografía13. Lechuga Romana Concentración 1



En la lechuga romana sin ningún tratamiento se evidencia un pardeamiento enzimático bastante intenso (fotografía 13). Por lo que se puede determinar que en esta lechuga es mayor el pardeamiento que en la lechuga cresspa. Además se determina la pérdida de color y la marchitez en sus hojas por lo que con esta fotografía podemos determinar que es necesaria la utilización de ácidos para evitar el pardeamiento y alargar la vida útil de la lechuga.

[fotografía13](#)

Fotografía 14. Lechuga Romana Concentración 2

En la concentración 2 podemos determinar que la lechuga romana presenta un pardeamiento enzimático leve por lo que la concentración 2 es la mejor para evitar el pardeamiento enzimático. Como se puede ver en la fotografía 14 desafortunadamente no se evita la marchitez de las hojas de la lechuga.

[fotografia14](#)

Fotografía 15. Lechuga Romana Concentración 3

En la fotografía 15 se puede determinar que el pardeamiento enzimático es leve por lo que para esta variedad de lechuga, es buena la utilización de esta concentración, para evitar el pardeamiento enzimático y sobre todo la proliferación de bacterias patógenas o de hongos que pueden afectar la calidad. Se observatambién que la lechuga conserva su brillo y color.

fotografía15

Fotografía 16.Lechuga Romana Concentración 4



Con la concentración 4 se observa un pardeamiento enzimático bastante intenso por lo que se puede determinar que esta concentración no es la mejor para esta variedad de lechuga. En la fotografía 16 se observa también que la lechuga conserva su color y brillo y no presenta marchitez. Es importante recalcar que la concentración 4 inhibe el crecimiento de bacterias patógenas.

fotografía16

7.6.3 Fotografías a los 16 Días de Lechuga

Fotografía 17. Lechuga Crespa Concentración 1



Se observa en la fotografía 17 que el pardeamiento es mayor que en los días 8 y a tiempo cero por lo que se determina que la lechuga está contaminada con bacterias ya que se observa una pudrición en sus hojas.

[fotografia17](#)

Fotografía 18. Lechuga Crespa Concentración 2



Con la concentración 2 (fotografía 18) se evidencia un pardeamiento alrededor del tallo de la lechuga por lo que se puede determinar que esta concentración no es la adecuada ya que se puede observar que las hojas se muestran un poco marchitas pero aún conserva su color verde.

[fotografia18](#)

Fotografía19. Lechuga Crespa Concentración 3



A los 16 días se puede observar que existe un pardeamiento mayor ya que hasta en sus nervaduras se presenta pardeamiento (fotografía 19), sus hojas también se muestran un poco marchitas por lo que no se recomienda utilizar esta concentración ya que no existe una reducción de pardeamiento enzimático. La lechuga crespa con concentración 3 que no pierde su color, también es importante recalcar que la concentración 3 no inhibe el crecimiento de bacterias y esto causa el deterioro de la lechuga y afecta a la calidad del mismo.

[fotografia19](#)

Fotografía 20. Lechuga Crespa Concentración 4

Se puede observar que en esta variedad de lechuga (fotografía 20), existe un leve pardeamiento por lo que se puede decir que la lechuga con concentración 4 es la más adecuada para evitar el crecimiento microbiano y el pardeamiento enzimático.

Esto ocurre ya que la concentración 4 es la que posee mayor concentración de ácidos orgánicos.

[fotografia20](#)

Fotografía 21. Lechuga Romana Concentración 1

En la fotografía 21 se evidencia un pardeamiento total en el tallo de la lechuga por lo que es necesario realizar tratamientos para la conservación de la misma. Esta fotografía nos muestra que el deterioro de la calidad de la lechuga romana es mayor que el de la lechuga crespa.

[fotografia21](#)

Fotografía 22.Lechuga Romana Concentración 2



Se presenta pardeamiento en el tallo de la lechuga pero no se evidencia un pardeamiento muy intenso (Fotografía 22). La lechuga romana a los 16 días se conserva intacta ya que sus hojas no presentan marchitez y conservan su color verde

[fotografia22](#)

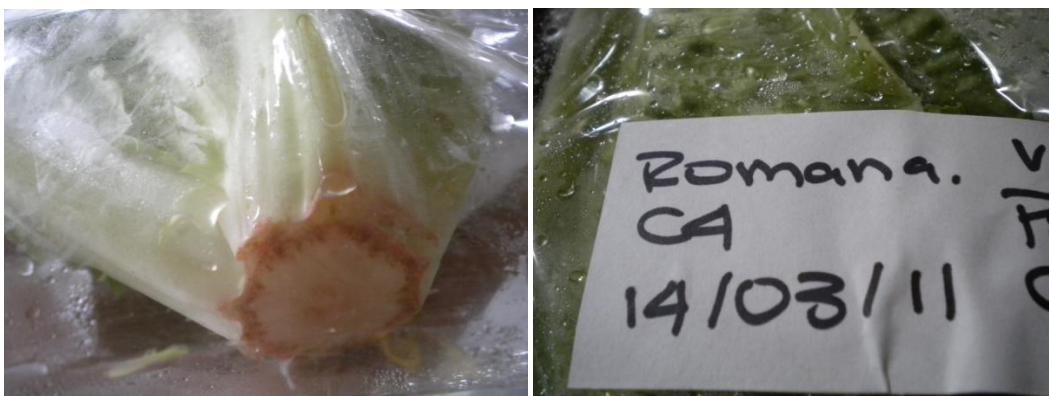
Fotografía 23.Lechuga Romana Concentración 3



Se presenta un pardeamiento alrededor de su tallo, por lo que es importante recalcar que a pesar de pasar los días de almacenamiento no existe un pardeamiento mayor (Fotografía 23). Por lo que se puede decir que la lechuga con concentración 3 conserva la calidad (aparición física)

[fotografia23](#)

Fotografía24.Lechuga Romana Concentración 4



Se puede observar en la fotografía 24 que la concentración 4 es la que mejor evita el pardeamiento enzimático, por lo que se recomienda la utilización de esta concentración ya que se puede determinar que el pardeamiento enzimático es menor a pesar de estar 16 días en refrigeración, además evita el crecimiento de microorganismos, y la conservación de la lechuga es buena porque no existe un marchitamiento de las hojas de la lechuga.

[fotografia24](#)

Tabla 44. Resultados del análisis visual de pardeamiento enzimático en las dos variedades de lechuga de hoja

	CONCENTRACION		
	1		
	Tiempo cero	Tiempo a 8 días	Tiempo a 16 días
Lechuga Crespa	Muy ligero	Poco intenso	Muy intenso
lechuga Romana	Levemente ligero	intenso	Muy intenso
	CONCENTRACION		
	2		
	Tiempo cero	Tiempo a 8 días	Tiempo a 16 días
Lechuga Crespa	Muy ligero	Poco intenso	Intenso
lechuga Romana	Levemente ligero	Poco intenso	Muy intenso
	CONCENTRACION		
	3		
	Tiempo cero	Tiempo a 8 días	Tiempo a 16 días
Lechuga Crespa	Muy ligero	Poco intenso	Intenso
lechuga Romana	Levemente ligero	Poco intenso	Muy intenso
	CONCENTRACION		
	4		
	Tiempo cero	Tiempo a 8 días	Tiempo a 16 días
Lechuga Crespa	Muy ligero	Ligero	Intenso
lechuga Romana	Muy ligero	Poco intenso	Intenso

En la tabla 44 se presenta un resumen de los resultados del análisis visual de pardeamiento enzimático.

Tabla 47

El pardeamiento enzimático es un problema significativo el cual limita la vida útil de las hortalizas, los cuales han tenido un tratamiento en el procesado, el pardeamiento enzimático provoca cambios en sabor y aroma, el pardeamiento enzimático se da después de horas después de la recolección, los ácidos orgánicos previenen el pardeamiento en hortalizas no acidas, la reacción de pardeamiento necesita oxígeno, el pardeamiento puede darse en refrigeración ya que la PPO es sensible al calor pero no a la refrigeración, el pardeamiento enzimático es un problema en cuestiones de calidad ya que este pardeamiento puede producir alteraciones en el color y la textura de las hortalizas.

Los colores formados en el pardeamiento son muy variables colores marrones, rojizos o negros dependiendo del alimento y de condiciones del proceso.

Existe la posibilidad de producirse pérdida nutricional, la PPO no se oxida directamente el ácido ascórbico, esta vitamina puede destruirse con intermedios de la reacción con otros ácidos.

La tirosina es el principal sustrato de la PPO en la lechuga y los champiñones. Bajando el pH 2.5 la actividad enzimática decrece ya que la PPO es óptima entre 5 y 7. Entre los ácidos más utilizados está el ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico estos ayudan a bajar el pH 2.5 en concentraciones altas.

La FAO cita que las frutas y hortalizas son productos altamente perecederos, esto se da por deterioros microbiológicos y fisiológicos, estos daños se dan por pérdida de agua daño mecánico durante las cosechas envasado y transporte. Los factores más importantes que controlan la velocidad de los cambios deteriorativos y la proliferación de los microorganismos en los alimentos son la disponibilidad de agua, el pH y la temperatura. Los hongos toleran pH reducidos y se requiere la utilización de anti fúngicos. El pH es uno de los factores más importantes, ya que determina el tipo de organismo que puede proliferar y su velocidad de crecimiento, la actividad de los conservadores y la estabilidad de muchas vitaminas. El ácido cítrico previene el pardeamiento enzimático, ya que inhibe la polifenoloxidasas reduciendo el pH y secuestrando el cobre en el sitio activo de la enzima.

(Beltrán et al. 2005) citan en su artículo que el agua ozonizada extiende la vida de la lechuga, ya que esta evita el crecimiento de la PPO, también nos dicen que el uso de ácidos orgánicos ayuda a alargar la vida de la lechuga ya que estos ácidos inhiben el pardeamiento y evitan la proliferación de bacterias.

En el estudio realizado por Tanaka et al. (2011) se determinó la inhibición de pardeamiento enzimático y la disminución de microorganismos en la lechuga de hoja con tratamiento con ácidos, estos decrecen el crecimiento de microorganismos a los 12 días extendiendo su vida útil máximo hasta los 21 días pero presentando marchitez en sus hojas.

Chazarra et al. (1999). Determina en su estudio realizado que junto con parámetros cinéticos, el periodo después del almacenamiento existe la probabilidad de un pardeamiento enzimático mayor, por lo que va a depender del pH de la enzima, del sustrato

y en presencia de concentraciones de ácidos orgánicos existe la inhibición de pardeamiento una leve mejora para evitar el pardeamiento enzimático.

Después de 14 días de almacenamiento de la lechuga de hoja se ha demostrado que no existe pérdida significativa de textura y el total de antioxidantes, por lo que el pardeamiento es más evidente que en un principio, la lechuga de hoja pierde la calidad.

Fan,et.al(2003)

Es más efectivo controlar el crecimiento, microbiano con ácidos orgánicos ya que hay una reducción de mesófilos y de bacterias coliformes, la utilización de diferentes ácidos ha sido estudiado por su potente acción antimicrobiana y posiblemente anti fúngica, el crecimiento ha sido inhibido por el uso de ácidos en diferentes concentraciones, esto se da por el efecto sinérgico que se realiza a diferentes concentraciones, mientras más sea la concentración de ácidos más fuerte va a ser la inhibición de bacterias, mientras menos sea la concentración va a existir crecimiento de bacterias y hongos más rápidamente .

Capinellaet.al (2003)

Existe la acumulación de compuestos fenólicos en la lechuga romana y crespa, cuando estas son bajadas a 4°C decrece el pardeamiento enzimático y ayuda a que las propiedades de los antioxidantes presentes en la lechuga como el ácido ascórbico o Vitamina C puedan ser más eficientes. Ho-Minkang y Saltveit(2002).

8. CONCLUSIONES

- El uso de ácidos Orgánicos presentes en el Citrinal sf422 a diferentes concentraciones, controla parcialmente el pardeamiento enzimático (análisis visual) producido en el tallo de las lechugas romana y crespa.

-El uso de concentraciones de Citrinal SF422 de 10 ml / 10 L evita el crecimiento de bacterias mesófilas, en conjunto con la concentración de 5ml/ 10L. En el caso de los hongos mientras más pasa el tiempo de almacenamiento existe más crecimiento de mohos.

-Se concluye que los ácidos orgánicos presentes en el Citrinal SF422 han cumplido su función evitando o disminuyendo el pardeamiento enzimático. El efecto antimicrobiano debido al bajo pH, inhibe o disminuye el crecimiento de bacterias patógenas. Es importante concluir que no debe existir agua en las paredes del empaque, ya que esto puede generar una pudrición y proliferación de bacterias y hongos en las hojas de la lechuga de hoja.

-Se concluye también que las lechugas tienen que estar mayor tiempo en escurrimiento para evitar agua en el empaque de las mismas, ya que esto ocasiona un deterioro en la calidad de las lechugas. Se concluye también que la recolección de las lechugas se debe realizar en la mañana, preferiblemente a las 7, para evitar la deshidratación de la lechuga al momento de realizar los diferentes tratamientos.

-La lechuga romana es más sensible a las condiciones de acidificación y refrigeración ya que registra mayores síntomas de marchites a los 16 días según el análisis visual que se realizó.

-La lechuga cressa es una lechuga más fuerte y resistente a diferentes condiciones de almacenamientos ya que registra síntomas de marchites a los 16 días según análisis visual que se realizó.

-Se mejoró la calidad de la lechuga de hoja en sus dos variedades y también se extendió su vida útil inicial de 8 días, hasta 16 días, sin contaminación alguna y reduciendo el pardeamiento enzimático.

-La vitamina C es muy sensible por lo que al estar en contacto con ácidos orgánicos de cadena larga disminuye ligeramente su presencia en esta hortaliza, la lechuga cressa es la variedad que fué ligeramente afectada puesto que su promedio fué de 8.5 mg por cada 100g de lechuga fresca de vitamina C.

-A medida que aumentan los días de almacenamiento existe una reducción de la acción bactericida para la lechuga.

-La mayor producción de microorganismos corresponde a la de mesófilos, por lo que con el Citrinal se controla y evita el crecimiento de estos. En el caso de los coliformes se puede determinar que no existe mayor proliferación de estos manteniendo bajo el límite máximo permitido. En concentraciones de 5 a 10 mg/ml.

-El Citrinal SF422 no inhibe el desarrollo de mohos por lo que para la inhibición de los mismos se debería utilizar un anti fúngico.

-La concentración 4 (10 ml de Citrinal/ 10 lt de agua) es la concentración que produce menor pardeamiento enzimático es también la mejor concentración para evitar el crecimiento de mesófilos y coliformes en un tiempo de cero y 8 días. En la vitamina C esta no se ve una disminución con la concentración 4. Por lo que como mejor concentración para esta tesis se escoge la concentración 4.

9.RECOMENDACIONES

-Se recomienda estudiar otros ácidos orgánicos para ver la inhibición de bacterias patógenas así como también su influencia sobre el pardeamiento enzimático.

-Se recomienda realizar un estudio cuantitativo que permita tener datos más precisos del análisis de pardeamiento enzimático.

-Se recomienda realizar estudios con otros productos alimenticios como la manzana.

-Se recomienda la utilización de ácidos como agente antimicrobiano en concentraciones que no generen daños a la salud.

10.BIBLIOGRAFIA

ARTHEY, D y DENIS C.,. 1992.Procesamiento de hortalizas. Editorial Acribia .Zaragoza – España. pp. 1-7,26-30, 79, 165, 259

ADAMS,M.R y MOSS,M.O.,. 1997. Microbiología de alimentos. Editorial Acribia .Zaragoza – España.pp.29-42

ASHIE, I. SIMPSON,B.and SMITH, J. 1996. Mechanisms for controlling Enzymatic reactions in foods. Journal of Food Science and Nutrition.Volumen36,tomo 1-2. 1-30

BRAVERMAN, J. 1978. Introducción a la bioquímica de alimentos. México, D.F. pp. 355

HEIMDAL,H., LARSEN,L.and POLL,L. 1994. Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (*lactuca sativa*).Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 42, tomo 7.1428 – 1433

INFORMACION AGROPECUARIA. 2011. Cultivo de la lechuga, 8 de junio de 2011 (on line). <http://www.infoagro.com>

COPPEN, P. 1989. The use of antioxidants and Rancidity. Journal of Science and Technology. Volumen 24, tomo 2.83-104

PARRY, R. 1995. Introducción al envasado de alimentos envasado de alimentos en atmosfera modificada. Edición Madrid Vicente. Madrid –España. pp. 13-32

VALENCIA, A. 1997, Cultivo de hortalizas de hoja, col y lechuga. Ediciones Monserrat. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Lima- Perú. pp. 51-67

UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA DAVIS. 2011. Postharvesttechnology, 10 de junio de 2011 (on line). <http://rics.ucdavis.edu>

GIACONI, V. 1995. Cultivo de las hortalizas .Undécima edición. Editorial Universitaria. Santiago de Chile – Chile. pp. 337

NAMESNY, A. 1993. Post- recolección de Hortalizas.editorial de horticultura.Valencia – España. pp.330

McEVILY,A.,IYENGAR, R.andOTWEL, W. 1992.Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages.Journal of FoodSciences and Nutrition.Volumen 32, tomo 3. 253-273

MORALES, V. 2009. Control del pardeamiento enzimático, Revista Mundo Alimentario. Volumen 23, mayo –junio 2009. Pp. 28-34

CARVAJAL, F. 2007 .Procesamiento de frutas y Hortalizas. pp. 3-12

CALVO,M. 2000. Bioquímica de los alimentos .Editorial universitaria.Zaragoza – España.pp.7-10

USDA.2010. NationalNutrient data base for estándar reference. Realse 23.

WHIPPS, J. 2008. Food poisoning out break associated with consumption of fresh and minimally processed fresh vegetables, salads and fruits. Advances in AppliedMicrobiology. Volumen 64, tomo 3, 183- 221.

RODRIGUEZ- PALENZUELA, P. 2000. Agentes antimicrobianos. Editorial FEDNA. Madrid – España. pp. 33-45

PALACIOS,B.G. 1994. Identificación de coliformes en la lechuga.EditorialUAMME.México D.F. pp. 40-50

SHERWIN,P. 1990. Antioxidants and food additives.Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 39, tomo 11.1270-1285

WILEY, R. 1997. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Editorial Acribia. Zaragoza- España. pp. 362

MOSSEL,D.A.A.,MORENO,B.,y STRUIJK,C.B. 2006. Microbiología de los alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza-España. pp. 110 -130

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION.2011. Fruit and vegetableprocessing, Agricultural services bulletin.Rome.10 de junio de 2011.(on line) . pp.119<http://www.fao.org>

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN.2011. Small post-harvested handling practices. A manual for horticulture.Crops 3rd Edition.Rome. 10 de junio de 2011(on line)pp.8
<http://www.fao.org>

GOULD,G.D,. 1995. In new methods of food preservation. Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen45,tomo 4. 1051-1053

SHUFIUR RAHMAN, M. 2003. Manual de conservación de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza-España. Pp729-744

LÜCK, E y JAGER, M. 2001. Conservación química de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza-España. pp. 1-69

EROSKI, 2005. La lechuga. Revista Ideas Sanas .volumen 24, edición mayo – junio.

1- 21

WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE. 2011. ácido cítrico. 19 de junio de 2011

(on line) <http://www.wikipedia.org>

WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE. 2011. ácido fumárico. 19 de junio de 2011 (on

line) <http://www.wikipedia.org>

WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE. 2011. ácido málico. 19 de junio de 2011 (on

line) <http://www.wikipedia.org>

WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE. 2011. ácido láctico. 19 de junio de 2011 (on

line) <http://www.wikipedia.org>

FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza- España. pp.515,669,670,671,1183

CASTAÑER, M., GIL, M., ARTES, F. and TOMAS- BARBERAN, F. 2006. Inhibition of browning of harvested head lettuce. Journal of Food Sciences and Nutrition. Volumen 61, tomo 2.314- 316

SUQUILANDA, M. 2003. Producción orgánica de cinco hortalizas en la sierra centro norte del Ecuador. Editorial Universidad Central. Quito- Ecuador. pp. 147-164

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, ACUACULTURA Y PESCA. 2006.

Las hortalizas en el Ecuador. Proyecto SICA. Pp.34- 50

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, ACUACULTURA Y PESCA. 2006.

Lechuga mini . Proyecto SICA. Pp.20- 30

MENA, R. 2010 .Comunicación personal .

KIRK, R.S., SAWYER, R.,y EGAN, H. 1996.Composición y Análisis de los Alimentos de Pearson.EditorialCECSA, México D.F

AOAC. 1990. Association Of Official Analytical Chemist , Official Methods Of Analysis

Dexiberca . 2010. Ficha técnica de Citrinal SF422

3M , 2010. Ficha técnica de petrifilm 3M para análisis de coliformes,mesofilos y mohos .

LOPEZ, L., ROMERO, J., y URETA,F.V., 2001. Tratamientos de desinfección de lechugas. Editorial ALAN .Santiago de Chile- Chile. pp. 2-18

ETHAN,B.S., y MATTEWS,K.R., 2009. Attachment of *Escherichia coli* to lettuce. Produce Contamination problem: causes and Solutions. Microbiology Journal.Volumen 54, tomo 2. 26-37

PADRON, C.E., 2009. Diseños Experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería. Editorial Trillas. México D.F. pp. 16, 33,107

BUREAU,G.,y MULTON,J.L., 1995. Embalaje de los alimentos de gran consumo. Editorial Acribia. Zaragoza – España. pp. 1-7

SANCHEZ- OTERO,J. 2005. Introducción al diseño Experimental. Editorial nueva reimpresión. Quito –Ecuador.Pp. 6-17,71-74

CASP, A. y ABRIL, J. 2003. Procesos de conservación de alimentos. Ediciones Mundi-prensa. Madrid- España. pp.488,489

MATISSEK,R. SCHNEPEL,F. y STEINER,G. 1998. Análisis de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza- España. pp. 216, 217

Norma Peruana N° 615 para frutas y hortalizas frescas semiprocesadas(lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y /o precocidas), refrigeradas y/ o congeladas.

BELTRAN,D., SELMA,M.,MARIN, A. y GIL,M.2005. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce, Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 53, tomo 6. 14

TANAKA,E.,OKUMARA,D.,TAKAMIYA,R.,HOSAKA,H.,SHIMURA,Y.,YMURZTZ,S .2011.Inhibits enzymatic browning of cut lettuce by respossing of inhibits of microbial growth.Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 59,tomo 6. 14

CHAZARRA,S. GARCIA-CARMONA,F. Y CABANES,J. 1999. Characterization ofpoliphenoloxidase from iceberg lettuce.Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 44, tomo 4. 984-988

FAN,X.,TOIVENEN,P.M. A., RAJKOWSKI, K. T.,y SOKORALJ.B.,2003. Water tratamient in combination with modified atmosphere , reduces effects of irradiation of fresh- cut lettuce. Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 51, tomo 5. 1231-1236

CAPINELLA,M.C.,GIORDA,L.M.,FERRAYDI,C.G y PALACIOS,S.M.2003.

Antimicrobial effects of different acid organics.Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 51, tomo 3. 9

HO-MINKANG y SALTVEIT,M.E. 2002. Antioxidants capacity of lettuce.Journal of Agricultural and Food Chemistry.Volumen 50, tomo 12.25

Códigoalimentario Argentino

ANEXOS

ANEXO 1. Variable 1 (VITAMINA C) números aleatorios a seguir

Tratamientos	Repetición I	Repetición II	Repetición III
1	1	3	5
2	2	7	1
3	3	5	6
4	4	6	2
5	5	8	7
6	6	2	3
7	7	4	8
8	8	1	4

ANEXO 2. Variable 2 (CONTEO DE MESOFILOS TOTALES) números aleatorios a seguir

Tratamientos	Repetición I	Repetición II	Repetición III
1	1	8	4
2	2	4	3
3	3	1	8
4	4	6	5
5	5	7	1
6	6	2	7
7	7	5	2
8	8	3	6

ANEXO 3. Variable 3 (CONTEO DE COLIFORMES TOTALES) números aleatorios a seguir

Tratamientos	Repetición I	Repetición II	Repetición III
1	1	2	8
2	2	5	6
3	3	1	4
4	4	7	7
5	5	3	2
6	6	8	1
7	7	4	5
8	8	6	3

ANEXO 4. Variable 4 (CONTEO DE MOHOS) números aleatorios a seguir

Tratamientos	Repetición I	Repetición II	Repetición III
1	1	7	6
2	2	6	4
3	3	1	8
4	4	5	1
5	5	2	3
6	6	8	7
7	7	3	5
8	8	4	2

ANEXO 5. Cálculos de Concentración de Vitamina C Aleatoriamente

VITAMINA C				
TRATAMIENTO	REPETICION I	REPETICION II	REPETICION 3	TOTAL
1	9,02	8,24	9,36	26,62
2	4,27	8,67	9,06	22
3	8,86	9,02	4,04	21,92
4	4,55	4,13	4,51	13,19
5	9,53	4,63	8,39	22,55
6	4,29	4,93	8,61	17,83
7	8,48	4,21	4,35	17,04
8	4,4	9,52	4,18	18,1
TOTAL	53,4	53,35	52,5	159,25

ANEXO 6. Cálculos de Suma de Cuadrados de Concentración De Vitamina C concentración vs variedad

FC= $(157,34)^2/24$	
	1031,49
Sctotal = $(9,02)^2 + \dots + (4,1)^2 - FC$	
	133,65
Sctrat= $(27,6)^2 + \dots + (12,56)^2/3 - FC$	
	3493,70
	1164,57
	133,07
SCA= $(106,76)^2 + (52,49)^2/12 - FC$	
	13956,03
	1163,00
	131,508
SCB= $(41,31)^2 + (38,65)^2 + (40,37)^2 + (38,92)^2/6 - FC$	
	6193,73
	1032,29
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB	
#¡REF!	
	0,77
SCEE= SCTOT- SCTRAT	
SCEE=133,65-133,07	
	0,58

ANEXO 7. Cálculos de Suma de Cuadrados de Concentración De Vitamina C concentración vs tiempo

FC= $(471,39)^2/36$	6172,46
Sctotal = $(13,29)^2 + \dots + (12,25)^2 - FC$	6,12
Sctrat= $(27,6)^2 + \dots + (12,56)^2/3 - FC$	18532,92
	6177,64
	5,18
SCA= $(121)^2 + (114,88)^2 + (120,54)^2 + (114,9)^2/12 - FC$	55587,26
	6176,36
	3,903
SCB= $(158,15)^2 + (157,83)^2 + (155,41)^2/6 - FC$	74074,00
	0,37
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB	5,18-0,374-3,90
	0,90
SCEE= SCTOT- SCTRAT	SCEE=6,12-5,18
	0,94

ANEXO 8. Cálculos de Suma de Cuadrados de Concentración De Vitamina C tiempo vs variedad

FC= $(119,25)^2/24$	790,03
Sctotal = $(9,02)^2 + \dots + (4,04)^2 - FC$	105,24
Sctrat= $(27,41)^2 + \dots + (12,51)^2/3 - FC$	2681,54 893,85 103,81
SCA= $(40,27)^2 + (39,44)^2 + (39,54)^2/9 - FC$	4740,60 790,10 0,07
SCB= $(81,23)^2 + (38,02)^2/6 - FC$	8043,83 103,73
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB	0,02 0,77
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE=105,23-103,81	1,42

ANEXO 9. Cálculos de Recuento de Mesófilos Totales Aleatoriamente

MESOFILOS				
TRATAMIENTO	REPETICION 1	REPETICION 2	REPETICION 3	TOTAL
1	19200	42300	2715	64215
2	40800	13400	1600	55800
3	6475	21800	6500	34775
4	6100	1450	13950	21500
5	13800	7000	40975	61775
6	13450	2690	20650	36790
7	1250	7450	13675	22375
8	2650	13600	8200	24450
TOTAL	103725	109690	108265	321680

ANEXO 10. Suma de Cuadrados para Recuento de Mesofilos Totales concentración ves
variedad

FC= $(321680)^2/24$	
	4311584266,67
Sctotal = $(19200)^2 + \dots + (2715)^2 - FC$	
	3530052433,33
Sctrat= $(61650)^2 + \dots + (8055)^2/3 - FC$	
	23502274900,00
	7834091633,33
	3522507366,67
SCA= $(128500)^2 + (193180)^2/12 - FC$	
	53830762400,00
	4485896866,67
	174312600,00
SCB= $(185725)^2 + (41725)^2 + (81875)^2 + (12355)^2/6 - FC$	
	43090912900,00
	2870234550,00
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB SCAB= $(3530052433,33) - (174312600,00) - (2870234550)$	
	477960216,67
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE= $3530052433,33 - 3522507366,67$	
	7545066,67

ANEXO 11. Suma de Cuadrados para Recuento de Mesofilos Totales concentración ves tiempo

FC= $(970253)^2/36$	
	26149746778,0
Sctotal = $(60000)^2 + \dots + (4286)^2 - FC$	
	17990393161,0
Sctrat= $(180390)^2 + \dots + (12949)^2/3 - FC$	
	131836579365
	43945526455
	17795779677
SCA= $(562101)^2 + (123421)^2 + (249962)^2 + (34769)^2/6 - FC$	
	394880162247,00
	43875573583,00
	17725826804,972
SCB= $(321485)^2 + (325057)^2 + (323711)^2/12 - FC$	
	313803469995,00
	542388,22
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB	
17795779677-542388-17725826804	
	69410483,78
SCEE= SCTOT- SCTRAT	
	194613484,00

ANEXO 12. Suma de Cuadrados para Recuento de Mesofilos Totales tiempo vs variedad

FC= (309325) ² /18	5315664201,39
Sctotal =(19200) ² +.....+(13950) ² -FC	2498117673,61
Sctrat= (39475) ² +.....+(61425) ² /3-FC	16575866875,00
	5525288958,33
	209624756,94
SCA=(99825) ² +(105550) ² +(103950) ² /9-FC	31911435625,00
	5318572604,17
	2908402,78
SCB= (124200) ² +(185125) ² /6-FC	49696905625,00
	206214201,39
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB SCAB= (209624756,94)-(206214201,39)- (2908402,78)	502152,78
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE=2498117613,61-209624756,94	2288492916,67

ANEXO 13. Cálculos de Recuento de Coliformes Totales Aleatoriamente

COLIFORMES				
TRATAMIENTO	REPETICION 1	REPETICION 2	REPETICION 3	TOTAL
1	1070	69	48	1187
2	765	33	1725	2523
3	1650	995	54	2699
4	35	225	1340	1600
5	940	150	1115	2205
6	193	580	169	942
7	135	875	633	1643
8	45	2650	277	2972
TOTAL	4833	5577	5361	15771

ANEXO 14. Suma de Cuadrados para Recuento de Coliformes Totales concentración vs
variedad

FC= $(14856)^2/24$	9195864,00
Sctotal = $(1650)^2 + \dots + (54)^2 - FC$	7855359,00
Scrat= $(5110)^2 + \dots + (168)^2/3 - FC$	50821830,00
	16940610,00
	7744746,00
SCA= $(991,58)^2 + (246,42)^2/12 - FC$	150330050,00
	12527504,17
	3331640,17
SCB= $(7088)^2 + (3296)^2 + (3850)^2 + (622)^2/6 - FC$	76312744,00
	12718790,67
	3522926,67
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB SCAB= $(8282026,00) - (3512880,17) - (2453200)$	890179,17
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE= $8496864,00 - 8282026,00$	110613,00

ANEXO 15. Suma de Cuadrados para Recuento de Coliformes Totales concentración vs tiempo

FC= $(45893)^2/36$	58504651,4
Sctotal = $(2415)^2 + \dots + (207)^2 - FC$	22320341,6
Sctrat= $(7187)^2 + \dots + (624)^2/3 - FC$	242361075
	80787025
	22282374
SCA= $(21145)^2 + (9797)^2 + (13313)^2 + (1638)^2/6 - FC$	723011247,0
	80334583,00
	21829931,639
SCB= $(14490)^2 + (15340)^2 + (16063)^2/12 - FC$	703295669,0
	103321,06
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB 22282374-103321,056-27829931,64	349120,94
SCEE= SCTOT- SCTRAT	37968,00

ANEXO 16. Suma de Cuadrados para Recuento de Coliformes Totales concentración vs tiempo

FC= $(14235)^2/18$	11257512,50
Sctotal = $(1650)^2 + \dots + (277)^2 - FC$	5763043,50
Sctrat= $(3660)^2 + \dots + (959)^2/3 - FC$	46471999,00
	15490666,33
	4233153,83
SCA= $(4653)^2 + (4443)^2 + (5139)^2/9 - FC$	67799979,0
	11299996,50
	42484,00
SCB= $(11445)^2 + (2790)^2/6 - FC$	138772125,00
	15419125,00
	4161612,50
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB SCAB= $(4233153,83) - (4161612,50) - (42484)$	29057,33
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE= $5763043,50 - 4233153,83$	1529889,67

ANEXO 17. Cálculos de Recuento de Mohos Aleatoriamente

MOHOS				
TRATAMIENTO	REPETICION 1	REPETICION 2	REPETICION 3	TOTAL
1	1975	950	855	3780
2	400	820	675	1895
3	1925	1700	645	4270
4	600	1315	1825	3740
5	1400	353	1870	3623
6	875	600	990	2465
7	925	1815	1275	4015
8	700	710	380	1790
TOTAL	8800	8263	8515	25578

ANEXO 18. Suma de Cuadrados para Recuento de Mohos concentración vs variedad

FC= $(15771)^2/24$	27259753,50
Sctotal = $(9,02)^2 + \dots + (4,35)^2 - FC$	6595130,50
Sctrat= $(27,6)^2 + \dots + (13,38)^2/3 - FC$	101359864,00
	33786621,33
	6526867,83
SCA= $(106,76)^2 + (52,49)^2/12 - FC$	380698994,00
	31724916,17
	4465162,67
SCB= $(41,31)^2 + (38,65)^2 + (40,37)^2 + (38,92)^2/6 - FC$	167588414,00
	671648,83
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB	
SCAB= $(124,55) - (122,72) - (0,78)$	1390056,33
SCEE= SCTOT- SCTRAT	
SCEE= $125,45 - 124,55$	68262,67

ANEXO 20. Suma de Cuadrados para Recuento de Mohos concentración vs tiempo

FC= $(77577)^2/36$	167171970,3
Sctotal = $(2375)^2 + \dots + (1630)^2 - FC$	4749752,8
Sctrat= $(7164)^2 + \dots + (4904)^2/3 - FC$	515724005 171908002 4736031
SCA= $(20553)^2 + (23002)^2 + (19667)^2 + (14355)^2/6 - FC$	1544374727 171597191,9 4425221,639
SCB= $(26257)^2 + (24639)^2 + (26681)^2/12 - FC$	2008386131 193540,67
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB $4736031 - 193540,66 - 4425221,64$	117269,11
SCEE= SCTOT- SCTRAT	13721,33

ANEXO 19. Suma de Cuadrados para Recuento de Mohos tiempo vs variedad

FC= $(20768)^2/18$	23961656,89
Sctotal = $(1975)^2 + \dots + (855)^2 - FC$	5888977,11
Scrat= $(5300)^2 + \dots + (1910)^2/3 - FC$	86829214,00 28943071,33 4981414,44
SCA= $(7175)^2 + (6713)^2 + (6880)^2/6 - FC$	143879394,0 23979899,00 18242,11
SCB= $(15100)^2 + (5668)^2/12 - FC$	260136224,00 4942368,00
SCAB= SCTRAT-SCA-SCB SCAB= $(4942368) - (4942368) - (18242,11)$	20804,33
SCEE= SCTOT- SCTRAT SCEE= $5888977,11 - 4981414,44$	907562,67

ANEXO 20 Fotografías de Pasos de Experimentos**Fotografía 25. Recolección de Lechuga**

La recolección de lechuga se lo realizo a las 7 am ya que se necesita lechugas frescas y se necesita evitar la deshidratación de la lechuga.

Fotografía 26. Preparación de Concentraciones de Citrinal En 10 Litros de Agua

Concentración 1 = TESTIGO

Concentración 2 = 5 ml de Citrinal en 10 litros de agua

Concentración 3 = 7,5 ml de Citrinal en 10 litros de agua

Concentración 4= 10 ml de Citrinal en 10 litros de agua



En esta foto se está realizando las concentraciones de Citrinal para poder sumergir las lechugas en sus diferentes concentraciones.

Este procedimiento se lo realiza para poder disminuir el pardeamiento enzimático y evitar la proliferación de bacterias patógenas que pueden afectar a la salud

Fotografía 27. Sumergir las Lechugas en las Concentraciones de Citrinal



Se sumergió las dos variedades de lechuga crespa y romana, en las diferentes concentraciones de Citrinal para evitar el pardeamiento enzimático en el tallo de la lechuga, este proceso se lo realizo en un tiempo de 5 minutos.

La acidificación en las lechugas de hojas puede tener importantes implicaciones en el retraso del pardeamiento enzimático con menor rapidez.

Fotografía 28.Empacado de Lechugas Romana y Crespa



Una vez sumergida las lechugas en el Citrinal, se procedió a etiquetar y empacar la lechuga en fundas de polipropileno, el polipropileno es uno de los plásticos que tiene mejores resultados ya que este tiene mayor resistencia al calor y posee menos humedad en su interior .la humedad es uno de los factores indeseables en la lechuga ya que la humedad puede afectar en sus propiedades organolépticas y nutricionales.

Fotografía 29.Colocación de las Lechugas en Gavetas para Colocarlas en la Cámara de Refrigeración de 4° C



Fotografía 30. Lechugas en la Cámara de Refrigeración 4 °C



Se colocó las lechugas empacadas y etiquetadas en la cámara de refrigeración para conservarlas a temperatura de refrigeración ya que en la comercialización de lechugas de hojas son a temperatura de refrigeración 4 °C, para la mejor conservación.

ANEXO 21. Cálculos de Concentración de Vitamina C Ordenados factorial 4x2(concentración vs variedad de lechuga)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								GLOBAL
	V1C1 (T1)	V2C1 (T2)	V1C2 (T3)	V2C2 (T4)	V1C3 (T5)	V2C3 (T6)	V1C4 (T7)	V2C4 (T8)	
1	9,02	4,27	8,86	4,30	9,53	4,29	8,48	4,28	53,03
2	9,52	4,31	8,24	4,21	9,02	4,13	8,67	4,18	52,28
3	9,06	4,29	8,61	4,18	9,36	4,04	8,39	4,1	52,03
TOTAL	27,6	12,9	25,71	12,69	27,9	12,46	25,5	12,56	157,34
PROMEDIO	9,2	4,29	8,57	4,23	9,30	4,15	8,51	4,19	6,56

ANEXO 22. Tabla de Doble Entrada para Concentración de Vitamina C factorial 4x2(concentración vs variedad de lechuga)

		B		ΣB	B^-
		VI	V2		
A	C1	27,60	12,87	40,47	6,75
	C2	25,71	12,69	38,4	6,40
	C3	27,91	12,46	40,37	6,73
	C4	25,54	12,56	38,1	6,35
ΣA		106,76	50,58	157,34	
A^-		8,90	4,22	6,56	

ANEXO 23. Cálculos de Concentración de Vitamina C Ordenados Factorial 4 x 3 (concentración de Citrinal vs tiempo de almacenamiento)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS												GLOBAL
	T1C1 (T1)	T1C2 (T2)	T1C3 (T3)	T1C4 (T4)	T2C1 (T5)	T2C2 (T6)	T2C3 (T7)	T2C4 (T8)	T3C1 (T9)	T3C2 (T10)	T3C3 (T11)	T3C4 (T12)	
1	13,29	13,16	13,82	12,76	13,83	12,45	13,15	12,85	13,35	12,79	13,4	12,49	157,34
2	13,4	13,12	13,6	12,87	13,54	12,68	13,35	12,8	13,25	12,3	13,24	12,79	156,94
3	12,89	12,98	13,1	13,15	13,8	12,75	13,7	12,93	13,72	12,65	13,18	12,25	157,1
TOTAL	39,58	39,26	40,52	38,78	41,17	37,88	40,2	38,58	40,32	37,74	39,82	37,53	471,38
PROMEDIO	13,19	13,09	13,51	12,93	13,72	12,63	13,4	12,86	13,44	12,58	13,27	12,51	13,09

ANEXO 24. Tabla de doble entrada (concentración de Citrinal vs tiempo)

		A				ΣB	B^-
		C1	C2	C3	C4		
B	T1	39,58	39,26	40,52	38,79	158,15	13,18
	T2	41,17	37,88	40,2	38,58	157,83	13,15
	T3	40,32	37,74	39,82	37,53	155,41	12,95
	ΣA	121,07	114,88	120,54	114,9	471,39	13,09
A^-		13,45	12,76	13,39	12,8		

ANEXO 25 .Cálculos de Recuento de Mesófilos Totales Ordenados Factorial 4x2 (concentración de Citrinal vs variedad)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								GLOBAL
	VICI (T1)	V2C1 (T2)	V1C2 (T3)	V2C2 (T4)	V1C3 (T5)	V2C3 (T6)	V1C4 (T7)	V2C4 (T8)	
1	19200	40800	6475	6100	13800	13450	1250	2650	103725
2	21800	42300	7000	7450	13400	13600	1450	2690	109690
3	20650	40975	8200	6500	13675	13950	1600	2715	108265
TOTAL	61650	124075	21675	20050	40875	41000	4300	8055	321680
PROMEDIO	20550	41358,33	7225	6683,33	13625,00	13666,67	1433,33	2685	13403,33

ANEXO 26. Tabla de Doble Entrada para Recuento de Mesófilos Totales (concentración vs variedad)

		B		ΣA	A ⁻
		VI	V2		
A	C1	61650	124075	185725	30954,17
	C2	21675	20050	41725	6954,17
	C3	40875	41000	81875	13645,83
	C4	4300	8055	12355	2059,17
	ΣB	128500	193180	321680	
B ⁻		10708,33	16098,33	13403,33	

ANEXO 26 .Cálculos de Recuento de Mesófilos Totales Ordenados Factorial 4x3 (concentración de Citrinal vs tiempo)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								T3C1 (T9)	T3C2 (T10)	T3C3 (T11)	T3C4 (T12)	GLOBAL
	T1C1 (T1)	T1C2 (T2)	T1C3 (T3)	T1C4 (T4)	T2C1 (T5)	T2C2 (T6)	T2C3 (T7)	T2C4 (T8)					
1	60000	12575	27250	3900	58100	13250	27000	3090	61625	14756	27625	4315	313486
2	58920	13250	28375	3745	76000	12975	26589	3005	61454	14245	27603	4348	330509
3	61470	14510	32580	4910	63000	13478	25400	3170	61532	14382	27540	4286	326258
TOTAL	180390	40335	88205	12555	197100	39703	78989	9265	184611	43383	82768	12949	970253
PROMEDIO	60130,00	13445,00	29401,67	4185,00	65700	13234,33	26329,7	3088,3	61537	14461	27589,33	4316,3	26951,47

ANEXO 27. Tabla de doble entrada(concentración de Citrinal vs tiempo)

		A				ΣB	B^-
		C1	C2	C3	C4		
B	TI	180390,00	40335	88205	12555	321485,00	26790,42
	T2	197100,00	39703,00	78989,00	9265,00	325057,00	27088,08
	T3	184611,00	43383	82768	12949	323711,00	26975,92
	ΣA	562101,00	123421	249962	34769	970253	26951,47
A^-		62455,67	13713,44	27773,56	3863,2		

Tabla45.Cálculos de Recuento de Coliformes Totales Ordenados 4x2 (concentración de Citrinal vs variedad)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								GLOBAL
	VICI (T1)	V2C1 (T2)	V1C2 (T3)	V2C2 (T4)	V1C3 (T5)	V2C3 (T6)	V1C4 (T7)	V2C4 (T8)	
1	1650	765	1070	35	940	193	135	45	4833
2	1735	580	995	33	875	225	150	69	4662
3	1725	633	1115	48	1340	277	169	54	5361
TOTAL	5110	1978	3180	116	3155	695	454	168	14856
PROMEDIO	1703,333	659,33	1060,00	38,67	1051,67	231,67	151,33	56	619,00

ANEXO 28. Tabla de Doble Entrada para Recuento de Coliformes Totales (concentración de Citrinal vs variedad)

		B		ΣA	A^-
		VI	V2		
A	C1	5110	1978	7088	1181,33
	C2	3180	116	3296	549,33
	C3	3155	695	3850	641,67
	C4	454	168	622	103,67
ΣB		11899	2957	14856	
B^-		991,58	246,42	619,00	

ANEXO 29.Cálculos de Recuento de Coliformes Totales Ordenadosfactorial 4x3(concentración de Citrinal vs tiempo)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS												GLOBAL
	T1C1 (T1)	T1C2 (T2)	T1C3 (T3)	T1C4 (T4)	T2C1 (T5)	T2C2 (T6)	T2C3 (T7)	T2C4 (T8)	T3C1 (T8)	T3C2 (T10)	T3C3 (T11)	T3C4 (T12)	
1	2415	1105	1133	180	2315	1028	1617	153	2358	1163	1677	223	15367
2	2348	1003	1248	177	2297	949	1589	189	2317	1140	1642	194	15093
3	2424	1158	1154	145	2324	1079	1630	170	2347	1172	1623	207	15433
TOTAL	7187	3266	3535	502	6936	3056	4836	512	7022	3475	4942	624	45893,00
PROMEDIO	2395,67	1088,67	1178,33	167,33	2312	1018,67	1612,0	170,7	2340,67	1158,33	1647,33	208,0	1274,81

ANEXO 30Tabla de doble entrada(concentración vs tiempo)

		B			ΣA	A^-
		T1	T2	T3		
A	C1	7187,00	6936,00	7022,00	21145,00	780,22
	C2	3266	3056,00	3475	9797,00	386,11
	C3	3535	4836,00	4942	13313,00	549,11
	C4	502	512,00	624	1638	69,33
	ΣB	14490	15340	16063	45893,00	
B⁻		1207,50	1278,33	1338,58	1274,8	

ANEXO 31Cálculos de Recuento de Mohos Ordenados factorial 4x2(concentración de Citrinal vs variedad de lechuga)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								GLOBAL
	V1C1 (T1)	V2C1 (T2)	V1C2 (T3)	V2C2 (T4)	V1C3 (T5)	V2C3 (T6)	V1C4 (T7)	V2C4 (T8)	
1	1975	400	1925	600	1400	875	925	700	8800
2	1700	353	1815	710	1315	820	950	600	8263
3	1825	380	1870	675	1275	855	990	645	8515
TOTAL	5500	1133	5610	1985	3990	2550	2865	1945	25578
PROMEDIO	1833,33	377,67	1870	661,67	1330,00	850,00	955,00	648,33	1065,75

ANEXO 32Tabla de Doble Entrada para Recuento de Mohos (concentración de Citrinal vs variedad de lechuga)

		B		ΣA	A^-
		V1	V2		
A	C1	5500	1133	6633	1105,50
	C2	5610	1985	7595	1265,83
	C3	3990	2550	6540	1090,00
	C4	2865	1945	4810	801,67
	ΣB	17965	7613	25578	
B⁻		1497,08	634,42	1065,75	

ANEXO 33. Cálculos de Recuento de Mohos Ordenados factorial 4x3 (concentración de Citrinal vs tiempo)

REPETICIONES	TRATAMIENTOS								T3C1 (T9)	T3C2 (T10)	T3C3 (T11)	T3C4 (T12)	GLOBAL
	T1C1 (T1)	T1C2 (T2)	T1C3 (T3)	T1C4 (T4)	T2C1 (T5)	T2C2 (T6)	T2C3 (T7)	T2C4 (T8)					
1	2375	2525	2275	1625	2053	2525	2135	1550	2407	2645	2234	1639	25988
2	2405	2507	2200	1610	2004	2518	2078	1530	2405	2607	2204	1635	25703
3	2384	2509	2208	1634	2105	2534	2105	1502	2415	2632	2228	1630	25886
TOTAL	7164	7541	6683	4869	6162	7577	6318	4582	7227	7884	6666	4904	77577,00
PROMEDIO	2388,00	2513,67	2227,67	1623,00	2054	2525,67	2106,0	1527,3	2409	2628	2222	1634,7	2154,92

ANEXO 34. Tabla de doble entrada (concentración de Citrinal vs tiempo)

		B			ΣA	A ⁻
		T1	T2	T3		
A	CI	7164,00	6162,00	7227,00	20553,00	803,00
	C2	7541	7577,00	7884	23002,00	876,00
	C3	6683	6318,00	6666	19667,00	740,67
	C4	4869	4582,00	4904	14355	544,89
ΣB		26257	24639	26681	77577,00	
B ⁻		2188,08	2053,25	2223,42	2154,9	