

PERMEABILITY ESTIMATION OF A MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGE FOR “HASS” AVOCADO STORAGE

ESTIMACIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE UN EMPAQUE DE ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL ALMACENAMIENTO DE AGUACATE “HASS”

Yessica Vázquez-López¹, José Caro-Corrales², Soila Gaxiola-Camacho^{1*}, Rosalina Iribe-Salazar², Marco Carrasco-Escalante², Jesús Portillo-Loera¹, Miguel Rodríguez-Gaxiola¹

¹Posgrado en Ciencias Agropecuarias (FMVZ-UAS), Universidad Autónoma de Sinaloa, Boulevard San Ángel, Fraccionamiento San Benito 3886, 80260, Culiacán, Sinaloa, México.

²Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos (FCQB-UAS), Universidad Autónoma de Sinaloa, Calzada de las Américas Nte 2771, Burócrata, 80013, Culiacán, Sinaloa, México.

ABSTRACT

Refrigeration and modified atmosphere packaging (MAP) are useful technologies to preserve and extend the shelf life of fruit and vegetables. The packaging industry aims to permanently develop technologies that provide suitable conditions for the commercialization of fruit and vegetables. Due to the market demands, packages were developed to protect fresh products from quality loss and to prolong shelf life. MAP is not always used for horticultural products in México. There are few cases where packages are designed for a specific fruit. Sometimes, the same package is used for different fruit; therefore, there is no adequate control of the gas concentration during storage, causing a faster deterioration. The objective of this research was to simulate the O₂ and CO₂ concentrations of “Hass” avocado (*Persea americana* Mill.) stored in a MAP with different O₂ and CO₂ permeabilities, based on the non-stationary state mass balances for the gas concentrations and the enzymatic kinetics for O₂ consumption and CO₂ production rates. A closed system and inhibition models were used to determine the respiratory behavior, and the correspondent kinetic parameters were obtained through a regression analysis. The O₂ and CO₂ concentrations inside a MAP in function of time were satisfactorily ($R^2 > 0.97$) simulated at 8 ± 1 °C using a competitive inhibition model. Through simulation, different permeabilities were tested to ensure lower O₂ and higher CO₂ concentrations levels inside the MAP. With the estimated O₂ (2.9×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹) and CO₂ (4.1×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹) permeabilities, the gas concentrations inside the package were simulated for the system to reach stable concentrations of 10.0 and 9.5 mol% for

RESUMEN

La refrigeración y el empaque con atmósfera modificada (MAP, por sus siglas en inglés) son tecnologías útiles para conservar y extender la vida útil de frutos y vegetales. La industria del empaque busca continuamente desarrollar tecnologías que brinden condiciones adecuadas para la comercialización de frutos y vegetales. Debido a las demandas comerciales, se han desarrollado empaques que mantienen la calidad y extienden la vida útil de los productos frescos. En México, el MAP no siempre se utiliza para productos hortícolas. Los casos en los que se diseña un empaque para un fruto en específico son pocos. En ocasiones, el mismo empaque se utiliza para diferentes frutos, por lo que no hay un control adecuado de la concentración de gases durante el almacenamiento y el producto se deteriora más rápido. El objetivo de esta investigación fue simular las concentraciones de O₂ y CO₂ del aguacate “Hass” (*Persea americana* Mill.) almacenado en un MAP con diferentes permeabilidades a O₂ y CO₂ con base en los balances de masa en estado no estacionario para las concentraciones de gas y la cinética enzimática para las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂. Un sistema cerrado y modelos de inhibición se usaron para determinar el comportamiento respiratorio y los parámetros cinéticos correspondientes se obtuvieron mediante un análisis de regresión. La simulación a 8 ± 1 °C de las concentraciones de O₂ y CO₂ dentro del MAP en función del tiempo fue satisfactoria ($R^2 > 0.97$) empleando un modelo de inhibición competitiva. Mediante simulaciones se evaluaron diversas permeabilidades para asegurar menores y mayores concentraciones de O₂ y CO₂, respectivamente, dentro del MAP. Con base en las estimaciones de la permeabilidad a O₂ (2.9×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹) y CO₂ (4.1×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹), se simuló las concentraciones de gas dentro del empaque para que el sistema alcance concentraciones estables de 10.0 y 9.5 %mol de O₂ y CO₂ después de 240 h de almace-

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

Received: October, 2018. Approved: October, 2019.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 54: 471-490. 2020.

O₂ and CO₂ after 240 h of storage. These permeabilities could improve the internal atmosphere and extend the “Hass” avocado shelf life when stored under MAP at 8±1 °C.

Key words: permeability, respiration rate, MAP, avocado, *Persea americana* Mill.

INTRODUCTION

Avocado fruit (*Persea americana* Mill.) is of great socioeconomic importance in México. The global estimated production of avocado is 5.5 million t and México is the main producer (1.8 million t) and exporter (926,597 t) of this fruit (FAOSTAT, 2018). The state of Michoacán is the main avocado producer in México with 166 000 ha cultivated in 2018, and this area has increased annually (SIAP, 2019). The consumption of this fruit is mainly in fresh and refrigeration is the main technology used for its preservation (Perez *et al.*, 2004). The “Hass” avocado is commercially stored at 5 to 6 °C; if storage is carried out at a lower temperature the fruit develops chilling injury (Bill *et al.*, 2014). Avocados are packed in cardboard boxes with a capacity of 4 kg and designed to maintain the appropriate moisture and ventilation during refrigeration. Modified atmosphere packages (MAP) are offered for horticultural products to prolong their quality. However, this technology is not always used and the packages selected are mainly generic and utilized for several fruits, with only few packages available for a specific fruit; in some cases, they do not fulfill the requirements to generate the optimum atmosphere, maximize the preservation, and maintain the quality of the fruit.

Respiration is a fundamental process in the conversion of energy, which is common in all living beings (Millar *et al.*, 2011). In addition, due to its physiological importance, the knowledge of the respiration parameters has technological relevance; particularly towards the development of MAP (Gomes *et al.*, 2010) as an adjunctive technique of cold storage. This technology consists in modifying the gas concentrations surrounding a product to be different from those of air. A reduction of O₂ and increase of CO₂ concentrations are involved, changing the physiological processes related to ripening and senescence, and prolonging the preservation of the product (Kader and Saltveit, 2003). This modified

namiento. Estas permeabilidades podrían mejorar la atmósfera interna y extender la vida útil del aguacate “Hass” almacenado en un MAP a 8±1 °C.

Palabras clave: permeabilidad, velocidad de respiración, MAP, aguacate, *Persea americana* Mill.

INTRODUCCIÓN

En México, el aguacate (*Persea americana* Mill.) es de gran importancia socioeconómica. La producción mundial de aguacate estimada es 5.5 millones t, y México es el principal productor (1.8 millones t) y exportador (926,597 t) de este fruto (FAOSTAT, 2018). El estado de Michoacán es el principal productor de aguacate en México con 166 000 ha cultivadas en 2018, aunque esta área aumenta cada año (SIAP, 2019). Este producto se consume fresco y la refrigeración es la principal tecnología empleada para conservarlo (Perez *et al.*, 2004). El aguacate “Hass” se almacena comercialmente a 5-6 °C; si se almacena a temperaturas más bajas el fruto desarrolla daño por frío (Bill *et al.*, 2014). Los aguacates se empacan en cajas de cartón de 4 kg de capacidad, diseñadas para mantener la humedad y ventilación adecuadas durante la refrigeración. Empaques para atmósfera modificada (MAP, modified atmosphere packages) se ofrecen para extender la calidad de productos hortícolas. Pero esta tecnología no siempre se usa y los empaques seleccionados son genéricos en su mayoría y se utilizan para varios frutos, con solo pocos empaques disponibles para un fruto específico; en algunos casos, no cumplen con los requisitos para generar una atmósfera óptima, maximizar la conservación y mantener la calidad del fruto.

La respiración es un proceso fundamental en la conversión de energía que todos los seres vivos tienen en común (Millar *et al.*, 2011). Además, debido a su importancia fisiológica, conocer los parámetros respiratorios tiene relevancia tecnológica; en particular en el desarrollo de MAP (Gomes *et al.*, 2010) como técnica complementaria de refrigeración. Esta tecnología consiste en modificar las concentraciones de gas que rodean un producto para ser diferentes de aquellas del aire. Una reducción de las concentraciones de O₂ y un aumento de las de CO₂ participan y cambian los procesos fisiológicos relacionados con la maduración y la senescencia, y así extienden la conservación del producto (Kader y Saltveit, 2003).

atmosphere can be created by injecting into the package the gas mixture of desired composition (Lee *et al.*, 2008) or from the product respiration (O_2 consumption and CO_2 production) inside the package (passive MAP). The reduction of O_2 and increase of CO_2 concentrations inside the package depends on the permeability of the film. Meeting the permeability requirements for different respiration rates (slow and high) is a difficult challenge in the design of MAP (Pandey and Goswami, 2012). The optimal O_2 and CO_2 concentrations to store "Hass" avocado in a MAP are from 2 to 5 and 3 to 10 mol%, respectively (Yahia, 1998). An improperly designed MAP could be ineffective in extending the shelf life of packaged products, if the desired or optimum atmosphere is not established inside the package (Oliveira *et al.*, 2012). It can cause high CO_2 concentration, with the risk of skin and flesh discoloration and off-flavor development in avocado when CO_2 concentration is higher than 10%, especially when O_2 concentration is lower than 1% (Yahia, 2012). The design of specific commercial films for each fruit can reduce these risks.

In México, a MAP with optimum permeability is not frequently used for avocado exportation, and an incentive could be to design suitable packages that allow to extend the useful life of this fruit. Mathematical modeling is employed as a convenient tool for MAP design and it allows to estimate the optimal permeability of the film to maintain the quality of the food (Rennie and Tavoularis, 2009). These models use the principles of mass balance to describe the interactions between respiration rate and film permeability with the atmosphere surrounding the product (Mangaraj and Goswami, 2011). Lee *et al.* (1991) described the respiration rate dependence on O_2 with a Michaelis-Menten kinetic model; since then, it is successfully used for modeling the respiratory behavior of fruit and vegetables. The inhibitory effect of CO_2 on the respiration rate can be considered by using the competitive, uncompetitive, non-competitive, and mixed inhibition models (Geysen *et al.*, 2005). Among reports for modeling the respiration rate of "Hass" avocado fruit stored in a MAP, Xiao and Kiyota (2000) used mathematical models to predict the partial pressure of O_2 at steady state for designing a MAP for "Fuerte" avocado. Castellanos *et al.* (2017) reported that a model based on enzymatic kinetics with uncompetitive inhibition

Esta atmósfera modificada se puede crear al inyectar la composición deseada de una mezcla de gases al interior del empaque (Lee *et al.*, 2008) o desde la respiración del producto (consumo de O_2 y producción de CO_2) dentro del empaque (MAP pasivo). La disminución y el aumento de las concentraciones de O_2 y CO_2 , respectivamente, dentro del empaque, dependen de la permeabilidad de la película. El cumplir con los requisitos de permeabilidad para diferentes velocidades de respiración (baja y alta) es un reto en el diseño de MAP (Pandey y Goswami, 2012). Las concentraciones óptimas de O_2 y CO_2 para el almacenamiento del aguacate "Hass" en un MAP son de 2 a 5 y de 3 a 10 %mol, respectivamente (Yahia, 1998). Si dentro del empaque no se establece la atmósfera deseada u óptima, debido a un mal diseño del MAP, no se podría extender la vida útil del producto (Oliveira *et al.*, 2012). Un empaque mal diseñado podría generar altas concentraciones de CO_2 , con el riesgo de desarrollar decoloración de la cáscara y la pulpa, así como un sabor anormal en el aguacate cuando la concentración de CO_2 es mayor al 10%, en especial cuando la concentración de O_2 es menor al 1% (Yahia, 2012). El diseño de películas comerciales específicas para cada fruto puede reducir estos riesgos. En México, por lo general no se usan MAP de una permeabilidad óptima para la exportación del aguacate, y un incentivo podría ser el diseño de empaques adecuados que permitan extender la vida útil de este fruto. Modelos matemáticos se usan como una herramienta útil en el diseño de MAP, ya que permiten estimar la permeabilidad óptima de la película para mantener la calidad del producto (Rennie y Tavoularis, 2009). Estos modelos utilizan los principios de balance de masa para describir las interacciones entre la velocidad de respiración y la permeabilidad de la película con la atmósfera que rodea al producto (Mangaraj y Goswami, 2011). Lee *et al.* (1991) describieron la dependencia de la velocidad de respiración con el O_2 con un modelo cinético de Michaelis-Menten; desde entonces, se utiliza para modelar el comportamiento respiratorio de frutos y vegetales. El efecto inhibitorio del CO_2 sobre la velocidad de respiración se puede considerar al emplear los modelos de inhibición competitiva, acompetitiva, no competitiva y mixta (Geysen *et al.*, 2005). Entre los reportes de modelado de la velocidad de respiración del fruto de aguacate "Hass" almacenado en un MAP, Xiao y Kiyota, (2000) usaron modelos matemáticos

adequately described the respiration process in “Hass” avocado fruit. However, there is a need to determine the optimal gas permeability to decrease O_2 and increase CO_2 concentrations inside the container, to reduce the respiration rate of avocado and to stabilize the internal atmosphere during storage. After knowing the proper permeability, the specific requirements (polymer mixture, size, and number of microperforations) can be obtained to produce a package for extending the useful life of the fruit. Therefore, the objective of this research was to simulate the O_2 and CO_2 concentrations of “Hass” avocado (*Persea americana* Mill.) stored in a MAP with different O_2 and CO_2 permeabilities, based on the non-stationary state mass balances for the gas concentrations and on the enzymatic kinetics for O_2 consumption and CO_2 production rates.

MATERIALS AND METHODS

Avocado fruit (*Persea americana* Mill.) cv. Hass were harvested at physiological maturity stage, 35 weeks after flowering (April 2017, Tacambaro, Michoacán, México) and purchased from a commercial distributor in Culiacán, Sinaloa, México. Fruit were selected based on size (220 ± 15 g) and color ($L^* = 36.5 \pm 2.7$, $a^* = -13.3 \pm 2.2$, $b^* = 18.1 \pm 3.5$). They were washed with a 1% sodium hypochlorite solution for 20 min (Russo *et al.*, 2014) and stored at 8 ± 1 °C. The modified atmosphere packaging was created using microperforated TrendLife® bags elaborated from polyamides, with dimensions of 82×74 cm, thickness of 1.27 mm (50 mil), and 120 microperforations with diameter of 0.7 mm. Packages were kept in a ripening room at 85% to 90% relative humidity wetting the floor with water.

Evaluation of the respiration rate

The O_2 consumption and CO_2 production rates of avocado fruit were measured in a closed system according to Iqbal *et al.* (2009). Glass containers of 5 L were used as respiration chambers with rubber seals on the top. These seals had an inlet and outlet copper rods with a diameter of 6 mm and lengths of 24 and 8 cm, respectively. Latex rubber hoses were connected to the chambers to distribute the gas concentrations. The O_2 and CO_2 concentrations were obtained from industrial grade compressed N_2 and CO_2 tanks (Praxair, México). One avocado fruit with a mass of 220.35 ± 11.81 g was placed in each of the respiration chambers. The rubber seal was inserted in the chamber and the sample was acclimatized with a continuous flow of the correspondent gas mixture for 12 h at 8 ± 1 °C. The flow of the

para predecir la presión parcial de O_2 en el estado estacionario para diseñar un MAP para el aguacate “Fuerte”. Castellanos *et al.* (2017) reportaron que un modelo basado en cinética enzimática con inhibición acompetitiva describió adecuadamente el proceso respiratorio del fruto de aguacate “Hass”. Sin embargo, es necesario determinar la permeabilidad óptima para disminuir la concentración de O_2 y aumentar la de CO_2 dentro del empaque, para así reducir la velocidad de respiración del aguacate y estabilizar la atmósfera interna durante el almacenamiento. Después de conocer la permeabilidad adecuada, se pueden obtener los requisitos específicos (mezcla de polímeros, tamaño y número de microperforaciones) para producir un empaque que extienda la vida útil del fruto. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue simular las concentraciones de O_2 y CO_2 del aguacate “Hass” (*Persea americana* Mill.) almacenado en un MAP con diferentes permeabilidades a O_2 y CO_2 , con base en los balances de masa en el estado no estacionario para las concentraciones de gas y en la cinética enzimática para las velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 .

MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. Hass se cosecharon en la etapa de madurez fisiológica, 35 semanas después de la floración (abril de 2017, Tacámbaro, Michoacán, México) y se compraron de un distribuidor comercial en Culiacán, Sinaloa, México. Los frutos se seleccionaron con base en su tamaño (220 ± 15 g) y color ($L^* = 36.5 \pm 2.7$, $a^* = -13.3 \pm 2.2$, $b^* = 18.1 \pm 3.5$). Los frutos se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 20 min (Russo *et al.*, 2014) y almacenaron a 8 ± 1 °C. El empaque con atmósfera modificada se creó con bolsas microperforadas de poliamida TrendLife®, con dimensiones de 82×74 cm, espesor de 1.27 mm (50 mil) y 120 microperforaciones con un diámetro de 0.7 mm. Los empaques se mantuvieron, humedeciendo el piso con agua, en un cuarto de maduración con una humedad relativa de 85% a 90%.

Evaluación de la velocidad de respiración

Las velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 del fruto de aguacate se determinaron en un sistema cerrado conforme a lo descrito por Iqbal *et al.* (2009). Contenedores de 5 L con tapas de goma se usaron como cámaras de respiración. Estas tapas tenían tubos de cobre de entrada y salida con un diámetro de 6 mm y longitudes de 24 y 8 cm, respectivamente.

gaseous combinations was established from 6-mm male-male generic needle valves. After 12 h of acclimatization, the flow was interrupted, and the chamber was hermetically sealed. The atmosphere composition was measured after 24 h of treatment with an O₂/CO₂ analyzer (ICA 250, USA). The O₂ consumption and CO₂ production rates for each gas combination were calculated with the following equations:

$$r_{O_2} = \frac{[O_2^i] - [O_2]}{100} \frac{V}{m(t - t_i)} \quad r_{CO_2} = \frac{[CO_2] - [CO_2^i]}{100} \frac{V}{m(t - t_i)} \quad (1)$$

Where: r_{O_2} and r_{CO_2} are the O₂ consumption and CO₂ production rates (mL kg⁻¹ h⁻¹). $[O_2^i]$ and $[CO_2^i]$ are the initial concentrations of the gases (mol%). t_i is the initial time (h). m is the mass (kg). V is the free volume in the chamber (mL).

Kinetics of O₂ consumption and CO₂ production

The Michaelis-Menten enzymatic equation was applied to model the O₂ consumption and CO₂ production rates in function of O₂ concentration (Lee *et al.*, 1991) as follows:

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} + [O_2]} \quad r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} + [O_2]} \quad (2)$$

Where: $V_{m_{O_2}}$ and $V_{m_{CO_2}}$ are the maximum respiration rates (mL kg⁻¹ h⁻¹). $K_{m_{O_2}}$ and $K_{m_{CO_2}}$ are the affinity constants (mol%).

The inhibitory effect of CO₂ on the respiration rate can be modeled based on a specific type of inhibition. Therefore, the following inhibition models (Geysen *et al.*, 2005) with the apparent maximum rate and affinity constant were tested:

Competitive

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^c + [O_2]} \quad K_{m_{O_2} app} = K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^c \quad \alpha_{O_2}^c = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^c} \quad (3)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^c + [O_2]} \quad K_{m_{CO_2} app} = K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^c$$

$$\alpha_{CO_2}^c = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^c} \quad (4)$$

Mangueras de goma de látex se conectaron a las cámaras para distribuir las concentraciones de gas. Las concentraciones de O₂ y CO₂ se obtuvieron desde tanques de N₂ y CO₂ comprimido grado industrial (Praxair, México). Un aguacate con una masa de 220.35 ± 11.81 g se colocó en cada cámara de respiración. La tapa de goma se insertó en la cámara y la muestra se climatizó con un flujo continuo de la mezcla de gas correspondiente durante 12 h a 8 ± 1 °C. El flujo de las combinaciones gaseosas se estableció a partir de válvulas de aguja genéricas macho-macho de 6 mm. Después de 12 h de climatización, el flujo se interrumpió y la cámara se selló herméticamente. La composición de la atmósfera se determinó después de 24 h de tratamiento con un analizador de O₂/CO₂ (ICA 250, EE.UU.). Las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂ para cada combinación de gases se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$r_{O_2} = \frac{[O_2^i] - [O_2]}{100} \frac{V}{m(t - t_i)} \quad r_{CO_2} = \frac{[CO_2] - [CO_2^i]}{100} \frac{V}{m(t - t_i)} \quad (1)$$

donde: r_{O_2} y r_{CO_2} son las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂ (mL kg⁻¹ h⁻¹). $[O_2^i]$ y $[CO_2^i]$ son las concentraciones iniciales de los gases (%mol). t_i corresponde al tiempo inicial (h). m corresponde a la masa (kg). V representa el volumen libre en la cámara (mL).

Cinéticas de consumo de O₂ y producción de CO₂

La ecuación enzimática de Michaelis-Menten se empleó para modelar las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂ en función de la concentración de O₂ (Lee *et al.*, 1991), como se muestra a continuación:

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} + [O_2]} \quad r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} + [O_2]} \quad (2)$$

donde: $V_{m_{O_2}}$ y $V_{m_{CO_2}}$ son las velocidades de respiración máximas (mL kg⁻¹ h⁻¹). $K_{m_{O_2}}$ y $K_{m_{CO_2}}$ representan las constantes de afinidad (%mol).

El efecto inhibitorio del CO₂ sobre la velocidad de respiración se puede modelar con base en un tipo de inhibición específico. Por lo que, se evaluaron los siguientes modelos de inhibición (Geysen *et al.*, 2005) con la velocidad máxima aparente y la constante de afinidad:

Uncompetitive

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} + \alpha_{O_2}^u [O_2]} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^u} K_{m_{O_2} app} = \frac{K_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^u}$$

$$\alpha_{O_2}^u = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^u} \quad (5)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} + \alpha_{CO_2}^u [O_2]} V_{m_{CO_2} app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^u}$$

$$K_{m_{CO_2} app} = \frac{K_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^u} \alpha_{CO_2}^u = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^u} \quad (6)$$

Non-competitive

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{(K_{m_{O_2}} + [O_2]) \alpha_{O_2}^n} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^n} \alpha_{O_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^n}$$

$$\alpha_{O_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^n} \quad (7)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{(K_{m_{CO_2}} + [O_2]) \alpha_{CO_2}^n} V_{m_{CO_2} app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^n}$$

$$\alpha_{CO_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^n} \quad (8)$$

Mixed inhibition

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^{m_1} + [O_2] \alpha_{O_2}^{m_2}} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^{m_2}}$$

$$K_{m_{O_2} app} = \frac{\alpha_{O_2}^{m_1} K_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^{m_2}} \quad (9)$$

$$\alpha_{O_2}^{m_1} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^{m_1}} \quad \alpha_{O_2}^{m_2} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^{m_2}} \quad (10)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^{m_1} + [O_2] \alpha_{CO_2}^{m_2}} V_{m_{CO_2} app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^{m_2}}$$

$$K_{m_{CO_2} app} = \frac{\alpha_{CO_2}^{m_1} K_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^{m_2}} \quad (11)$$

$$\alpha_{CO_2}^{m_1} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^{m_1}} \quad \alpha_{CO_2}^{m_2} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^{m_2}} \quad (12)$$

Competitiva

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^c + [O_2]} K_{m_{O_2} app} = K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^c \alpha_{O_2}^c = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^c}$$

$$\alpha_{O_2}^c = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^c} \quad (3)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^c + [O_2]} K_{m_{CO_2} app} = K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^c$$

$$\alpha_{CO_2}^c = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^c} \quad (4)$$

Acompetitiva

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} + \alpha_{O_2}^u [O_2]} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^u} K_{m_{O_2} app} = \frac{K_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^u}$$

$$\alpha_{O_2}^u = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^u} \quad (5)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} + \alpha_{CO_2}^u [O_2]} V_{m_{CO_2} app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^u}$$

$$K_{m_{CO_2} app} = \frac{K_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^u} \alpha_{CO_2}^u = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^u} \quad (6)$$

No competitiva

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{(K_{m_{O_2}} + [O_2]) \alpha_{O_2}^n} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^n} \alpha_{O_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^n}$$

$$\alpha_{O_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^n} \quad (7)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{(K_{m_{CO_2}} + [O_2]) \alpha_{CO_2}^n} V_{m_{CO_2} app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^n}$$

$$\alpha_{CO_2}^n = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^n} \quad (8)$$

Inhibición mixta

$$r_{O_2} = \frac{V_{m_{O_2}} [O_2]}{K_{m_{O_2}} \alpha_{O_2}^{m_1} + [O_2] \alpha_{O_2}^{m_2}} V_{m_{O_2} app} = \frac{V_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^{m_2}}$$

$$K_{m_{O_2} app} = \frac{\alpha_{O_2}^{m_1} K_{m_{O_2}}}{\alpha_{O_2}^{m_2}} \quad (9)$$

Where: $V_{m_{O_2}app}$ and $V_{m_{CO_2}app}$ are the apparent maximum respiration rates ($\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$). $K_{m_{O_2}app}$ and $K_{m_{CO_2}app}$ the apparent affinity constants (mol%). $K_{I_{O_2}}^c$, $K_{I_{O_2}}^u$, $K_{I_{O_2}}^n$, $K_{I_{O_2}}^{m_1}$, $K_{I_{O_2}}^{m_2}$, $K_{I_{CO_2}}^c$, $K_{I_{CO_2}}^u$, $K_{I_{CO_2}}^n$, $K_{I_{CO_2}}^{m_1}$, and $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$ the dissociation constants for the inhibitor (mol%). Superscripts indicate the type of inhibition: competitive (*c*), uncompetitive (*u*), non-competitive (*n*), and mixed (*m*₁, *m*₂) inhibition.

The O_2 consumption and CO_2 production rates in function of the substrate (O_2) concentrations were adjusted to the Michaelis-Menten enzyme kinetics, considering the inhibitory effect of CO_2 . Lineweaver-Burk graphs were constructed to estimate the kinetic parameters (V_m , K_m , and K_i) for the inhibition models. Then, linear regression analyses were performed between the reciprocal of the respiration rates ($1/r_{O_2}$ or $1/r_{CO_2}$) against the reciprocal of substrate concentration ($1/[O_2]$) for both scenarios, without considering the inhibitory effect of CO_2 and considering it.

Evaluation of diffused O_2 and CO_2 through the test package

The concentration-increase method was used to determine the amount of diffused gas through a permeable package. The mass transfer system to measure the diffusion of gases (O_2 or CO_2) consisted of a cylindrical plastic container with a nominal volume of 20 L, adapted with gas inlet and outlet valves. In order to displace the air in the container, industrial grade N_2 was flowed inside the container and the package, a bag of 10.4 L. Because the O_2 and CO_2 permeabilities of the bag were high, 90% of the microperforations were covered and only 12 of them were used for gas diffusion. The bag was filled with the test gas (O_2 or CO_2) to replace N_2 and placed inside the container. Afterwards, the container valves were closed, and the system was sealed. The diffusion of the gas out of the bag was measured inside the container as a function of time with the O_2/CO_2 gas analyzer. The system was placed in a cooling chamber at 8 ± 1 °C. The amount of diffused O_2 or CO_2 was calculated with the following equations:

$$Q_{O_2} = \frac{[O_2]}{100} V \quad Q_{CO_2} = \frac{[CO_2]}{100} V \quad (13)$$

Where: Q_{O_2} and Q_{CO_2} are the amounts of diffused gas (mL). V is the volume inside the container, out of the bag (mL).

Estimation of the O_2 and CO_2 permeability through the test package

The mass transfer through the package is described by the Fick's law of diffusion:

$$\alpha_{O_2}^{m_1} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^{m_1}} \quad \alpha_{O_2}^{m_2} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{O_2}}^{m_2}} \quad (10)$$

$$r_{CO_2} = \frac{V_{m_{CO_2}} [O_2]}{K_{m_{CO_2}} \alpha_{CO_2}^{m_1} + [O_2] \alpha_{CO_2}^{m_2}} \quad V_{m_{CO_2}app} = \frac{V_{m_{CO_2}}}{\alpha_{CO_2}^{m_2}} \quad (11)$$

$$\alpha_{CO_2}^{m_1} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^{m_1}} \quad \alpha_{CO_2}^{m_2} = 1 + \frac{[CO_2]}{K_{I_{CO_2}}^{m_2}} \quad (12)$$

donde: $V_{m_{O_2}app}$ y $V_{m_{CO_2}app}$ son las velocidades de respiración máxima aparente ($\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$). $K_{m_{O_2}app}$ y $K_{m_{CO_2}app}$ las constantes de afinidad aparente (%mol). $K_{I_{O_2}}^c$, $K_{I_{O_2}}^u$, $K_{I_{O_2}}^n$, $K_{I_{O_2}}^{m_1}$, $K_{I_{O_2}}^{m_2}$, $K_{I_{CO_2}}^c$, $K_{I_{CO_2}}^u$, $K_{I_{CO_2}}^n$, $K_{I_{CO_2}}^{m_1}$, y $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$ las constantes de disociación para el inhibidor (%mol). Los superíndices indican el tipo de inhibición: competitiva (*c*), acompetitiva (*u*), no competitiva (*n*) y mixta (*m*₁, *m*₂).

Las velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 en función de las concentraciones del sustrato (O_2) se ajustaron a la cinética enzimática de Michaelis-Menten, considerando el efecto inhibitorio del CO_2 . Con los gráficos de Lineweaver-Burk se estimaron los parámetros cinéticos (V_m , K_m y K_i) para los modelos de inhibición. Luego, se realizaron análisis de regresión lineal entre el recíproco de las velocidades respiratorias ($1/r_{O_2}$ o $1/r_{CO_2}$) y el recíproco de la concentración del sustrato ($1/[O_2]$) para ambos casos, con y sin el efecto inhibitorio del CO_2 .

Evaluación de la difusión del O_2 y CO_2 a través del empaque de prueba

El método de aumento de la concentración se usó para determinar la cantidad de gas difundido a través de un empaque permeable. El sistema de transferencia de masa para medir la difusión de los gases (O_2 o CO_2) consistió en un contenedor plástico cilíndrico con un volumen nominal de 20 L, adaptado con válvulas de entrada y salida de gas. Para desplazar el aire en el contenedor, se introdujo un flujo de N_2 grado industrial dentro del contenedor y el empaque, una bolsa de 10.4 L. Debido a la elevada permeabilidad de la bolsa al O_2 y CO_2 , se cubrió el 90% de las microperforaciones y sólo se usaron 12 para la difusión de los gases. La bolsa se llenó con el gas de prueba (O_2 o CO_2) para desplazar el N_2 y se colocó dentro del contenedor. Después, se cerraron las válvulas del contenedor y se selló el sistema. La difusión del gas hacia el exterior de la bolsa se determinó dentro del contenedor como una función del tiempo con el analizador de

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (14)$$

Where: C is the concentration of the permeant gas and D is the diffusivity coefficient.

The x coordinate is measured from the bottom of the film, which has a thickness L . The initial concentration of the permeant in the film is zero; at the bottom face ($x=0$) the concentration is C_1 , and at the top face ($x=L$) through which the diffusing substance emerges, the concentration is maintained at zero. Therefore, the initial and boundary conditions are:

$$C(x,0)=0 \quad C(0,t)=C_1 \quad C(L,t)=0 \quad (15)$$

The general solution in function of position x and time t is (Crank, 1975):

$$C = C_1 \left(1 - \frac{x}{L} \right) - \frac{2C_1}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} \sin \frac{n\pi x}{L} e^{-\frac{n^2 \pi^2 D t}{L^2}} \quad (16)$$

The mass flux density J that emerges from the film (at $x=L$) is given by:

$$J = \frac{1}{A} \frac{dQ}{dt} = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} \right)_{x=L} \quad (17)$$

Where: A is the transfer area (cm^2).

The amount of diffused gas that has passed through the membrane in time t is given by $Q = A \int_0^t J dt$; therefore, after taking $\partial C / \partial x$, the amount of diffused gas is expressed by the next infinite series:

$$Q = ALC_1 \left[\frac{Dt}{L^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} e^{-\frac{n^2 \pi^2 D t}{L^2}} \right] \quad (18)$$

As t approaches infinity, the terms involving the exponentials vanish and the amount of diffused gas through the membrane increases linearly with time, that is, the steady state was reached. This steady state is achieved when the mass Fourier number $F_{O_m} = Dt/L^2$ is greater than 0.45 (Crank, 1975). In this condition, the mass flux density can be expressed using the first law of diffusion $J = -D(dC/dx)$, which can be solved with the next equation:

$$J = D \frac{C_1 - C_2}{L} \quad (19)$$

gas O_2/CO_2 . El sistema se colocó en una cámara de enfriamiento a 8 ± 1 °C. La cantidad de O_2 o CO_2 difundido se calculó con la siguiente ecuación:

$$Q_{\text{O}_2} = \frac{[\text{O}_2]}{100} V \quad Q_{\text{CO}_2} = \frac{[\text{CO}_2]}{100} V \quad (13)$$

donde: Q_{O_2} y Q_{CO_2} son las cantidades de gas difundido (mL). V es el volumen dentro del contenedor, fuera de la bolsa (mL).

Estimación de la permeabilidad al O_2 y CO_2 a través del empaque de prueba

La ley de difusión de Fick describe la transferencia de masa a través del empaque:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (14)$$

donde: C es la concentración del gas permeante y D es el coeficiente de difusión.

La coordenada x se mide desde la base de la película, que tiene un espesor L . La concentración inicial del gas permeante en la película es cero; en la cara inferior ($x=0$) la concentración es C_1 , y en la cara superior ($x=L$), de la cual emerge la sustancia difundida, la concentración se mantiene en cero. Por lo tanto, la condición inicial y las de frontera son:

$$C(x,0)=0 \quad C(0,t)=C_1 \quad C(L,t)=0 \quad (15)$$

La solución general en función de la posición x y el tiempo t es (Crank, 1975):

$$C = C_1 \left(1 - \frac{x}{L} \right) - \frac{2C_1}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} \sin \frac{n\pi x}{L} e^{-\frac{n^2 \pi^2 D t}{L^2}} \quad (16)$$

La densidad de flujo de masa. Esta densidad de flujo J es igual al l flujo de masa (dQ/dtd) entre el área de transferencia (A).

$$J = \frac{1}{A} \frac{dQ}{dt} = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} \right)_{x=L} \quad (17)$$

donde: A es el área de transferencia (cm^2).

La cantidad de gas difundido que ha atravesado la membrana en el tiempo t se indica como $Q = A \int_0^t J dt$; por lo que, después de tomar $\partial C / \partial x$, la cantidad de gas difundido se expresa con la siguiente serie infinita:

The concentration can be expressed in terms of solubility, S and the partial pressure, p_A of the gas by $C = Sp_A$. In this way, the mass flux density is:

$$J = DS \frac{p_{A1} - p_{A2}}{L} = \frac{Q}{At} \quad (20)$$

After the steady state is reached, the slope (Q/t) of the linear portion of a Q versus time graph can be obtained and the permeability, $P_M = DS$ can be calculated from the following equation:

$$P_M = \frac{QL}{At(p_{A1} - p_{A2})} \quad (21)$$

Simulation of O₂ and CO₂ concentrations using different permeabilities

Hayakawa *et al.* (1975) used the mass balances for the O₂ and CO₂ concentrations in non-steady state:

$$\frac{d[O_2]}{dt} = 100 \left[\frac{AP_{MO_2}P_{atm}}{VL} \left(\frac{[O_2]_o}{100} - \frac{[O_2]}{100} \right) - \left(\frac{m r_{CO_2}}{V} \right) \right] \quad (22)$$

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = 100 \left[\frac{AP_{MCO_2}P_{atm}}{VL} \left(\frac{[CO_2]_o}{100} - \frac{[CO_2]}{100} \right) + \left(\frac{m r_{CO_2}}{V} \right) \right] \quad (23)$$

Where: $[O_2]_o$ and $[CO_2]_o$ are the concentrations outside the package (mol%). P_{MO_2} and P_{MCO_2} are the permeabilities to O₂ and CO₂ (mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹). P_{atm} is the atmosphere pressure (76 cmHg). m is the mass of fruit (kg). A is the transfer area (cm²). V is the free volume (mL). L is the package thickness (mm).

A computer code was performed to predict the O₂ and CO₂ concentrations inside the package in function of time. These ordinary differential equations were simultaneously solved using the modified Euler method. The proposed inhibition models were tested to select the best fit using the corresponding Michaelis-Menten parameters (K_m , V_m , and K_i) for O₂ and CO₂.

Five avocado fruit were randomly selected and placed in MAP TrendLife® bags, which were hermetically sealed with plastic straps. The transfer area was of 40×74 cm² and only 12 microperforations (diameter of 0.7 mm, each) were uncovered. Through a sampling port, the O₂ and CO₂ concentrations inside the bag were measured in function of time at 8±1 °C, until the concentrations were stabilized. The model validation was performed comparing the simulated and experimental

$$Q = ALC_1 \left[\frac{Dt}{L^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} e^{-\frac{n^2 \pi^2 Dt}{L^2}} \right] \quad (18)$$

Conforme t se aproxima al infinito, los términos que involucran a los exponenciales desaparecen y la cantidad de gas difundido a través de la membrana aumenta de forma lineal con el tiempo, esto es, se alcanza el estado estacionario. El estado estacionario se alcanza cuando el número de Fourier de masa $F_{Om} = Dt/L^2$ es mayor a 0.45 (Crank, 1975). En esta condición, la densidad de flujo de masa se puede expresar con la primera ley de difusión $J = -D (dC/dx)$, que se resuelve como:

$$J = D \frac{C_1 - C_2}{L} \quad (19)$$

La concentración se puede expresar en términos de la solubilidad S , y la presión parcial p_A del gas con $C = Sp_A$. Así, la densidad de flujo de masa es:

$$J = DS \frac{p_{A1} - p_{A2}}{L} = \frac{Q}{At} \quad (20)$$

Después de alcanzar el estado estacionario, se puede obtener la pendiente (Q/t) de la porción lineal de un gráfico de Q frente a tiempo y calcular la permeabilidad ($PM = DS$) con la siguiente ecuación:

$$P_M = \frac{QL}{At(p_{A1} - p_{A2})} \quad (21)$$

Simulación de la concentración de O₂ y CO₂ con diferentes permeabilidades

Hayakawa *et al.* (1975) utilizaron los balances de masa para las concentraciones de O₂ y CO₂ en el estado no estacionario:

$$\frac{d[O_2]}{dt} = 100 \left[\frac{AP_{MO_2}P_{atm}}{VL} \left(\frac{[O_2]_o}{100} - \frac{[O_2]}{100} \right) - \left(\frac{m r_{CO_2}}{V} \right) \right] \quad (22)$$

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = 100 \left[\frac{AP_{MCO_2}P_{atm}}{VL} \left(\frac{[CO_2]_o}{100} - \frac{[CO_2]}{100} \right) + \left(\frac{m r_{CO_2}}{V} \right) \right] \quad (23)$$

donde: $[O_2]_o$ y $[CO_2]_o$ son las concentraciones fuera del empaque (%mol). P_{MO_2} y P_{MCO_2} son la permeabilidad al O₂ y CO₂ (mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹). P_{atm} es la presión atmosférica (76 cmHg). m es la masa del fruto (kg). A es el área de transferencia (cm²). V es el volumen libre (mL). L es el espesor del empaque (mm).

concentrations in function of time. Finally, using the respiration rate model of best fit, through simulation, new O_2 and CO_2 permeabilities were proposed to store avocado fruit.

Design of experiments

Three completely random designs were used. For the evaluation of the O_2 and CO_2 respiration rates the factors were O_2 (6, 15, and 21 mol%) and CO_2 (0 and 8 mol%) concentrations. For O_2 and CO_2 permeability, the response variable was the amount of O_2 and CO_2 diffused through the package, the factor was the time for mass transfer (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, and 1.50 h). In order to validate the respiration model, the responses were the O_2 and CO_2 concentrations inside the bag and the factor was the storage time (0, 24, 48, 72, 96, 120, and 144 h). Three replicates were performed for each evaluation. The Fisher test ($p \leq 0.05$) was used to compare means (Montgomery, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

Kinetics of O_2 consumption and CO_2 production

Figure 1 shows the Michaelis-Menten graphs for estimated and experimental O_2 consumption and CO_2 production rates, in absence and presence of the inhibitor (8 mol% CO_2) at 8 ± 1 °C for the four inhibition models. The O_2 consumption and CO_2 production rates of avocado fruit ranged from 5.84 to 24.7 and from 6.84 to 25.6 mL $kg^{-1} h^{-1}$, respectively. In all graphs, the effect of the low oxygen concentration and inhibitor presence (CO_2) on the respiration rate was observed. This behavior was similar to that for other fruit and vegetables stored under modified atmospheres (Song *et al.*, 2002; Geysen *et al.*, 2005; Cliffe-Byrnes and O'Beirne, 2007). The minimum rates for O_2 consumption (5.84 mL $kg^{-1} h^{-1}$) and CO_2 production (6.84 mL $kg^{-1} h^{-1}$) were obtained for the treatment at 6 mol% O_2 and 8 mol% CO_2 . Castellanos *et al.* (2017) measured O_2 consumption and CO_2 production rates ranging from 4.17 to 25 mL $kg^{-1} h^{-1}$ at 6 °C under different gas concentrations for "Hass" avocado. Russo *et al.* (2014) reported CO_2 production rates up to 25 mL $kg^{-1} h^{-1}$ and concluded that treatments with the highest CO_2 concentrations had the lowest respiration activities in "Fuerte" avocado at 10 ± 1 °C. Ahmed *et al.* (2007) reported O_2 consumption rates from 6.99 to 9.79 and 3.32 to 6.03 mL kg^{-1}

Un código computacional se elaboró para predecir las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro del empaque en función del tiempo. Estas ecuaciones diferenciales ordinarias se resolvieron simultáneamente con el método de Euler modificado. Los métodos de inhibición propuestos se evaluaron para seleccionar el más adecuado empleando los parámetros cinéticos de Michaelis-Menten (K_m , V_m y K_i) correspondientes al O_2 y CO_2 .

Cinco frutos de aguacate se seleccionaron al azar y se colocaron en MAP, bolsas TrendLife®, el empaque se selló herméticamente con correas de plástico. El área de transferencia fue de 40×74 cm² y solo se abrieron 12 microperforaciones (diámetro de 0.7 mm, cada una). Por medio de un puerto de muestreo, se determinaron las concentraciones de O_2 y CO_2 al interior de la bolsa en función del tiempo a 8 ± 1 °C, hasta que las concentraciones se estabilizaron. El modelo se validó al comparar las concentraciones simuladas y experimentales en función del tiempo. Al final, empleando el modelo de velocidad de respiración de mejor ajuste, por medio de simulaciones, se propusieron nuevas permeabilidades al O_2 y CO_2 para almacenar el fruto de aguacate.

Diseño experimental

Tres diseños completamente aleatorios se usaron. Para evaluar la velocidad de respiración de O_2 y CO_2 los factores fueron las concentraciones de O_2 (6, 15 y 21 %mol) y CO_2 (0 y 8 %mol). Para la permeabilidad a O_2 y CO_2 , la variable de respuesta fue la cantidad de O_2 y CO_2 difundida a través del empaque, el factor fue el tiempo para la transferencia de masa (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25 y 1.50 h). Para validar el modelo de respiración, las respuestas fueron las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro de la bolsa y el factor fue el tiempo de almacenamiento (0, 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h). Para cada evaluación se realizaron tres réplicas. La prueba de Fisher ($p \leq 0.05$) se usó para comparar las medias (Montgomery, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética del consumo de O_2 y producción de CO_2

La Figura 1 muestra los gráficos de Michaelis-Menten de las velocidades de consumo y producción estimadas y experimentales de O_2 y CO_2 , en ausencia y presencia del inhibidor (8 %mol CO_2) a 8 ± 1 °C de los cuatro modelos de inhibición. La velocidad de consumo de O_2 y producción de CO_2 del fruto de aguacate varió de 5.84 a 24.7 y de 6.84 a 25.6 mL $kg^{-1} h^{-1}$, respectivamente. En todos los gráficos, se observó el efecto de la baja concentración de oxígeno y la presencia del inhibidor (CO_2) en la velocidad

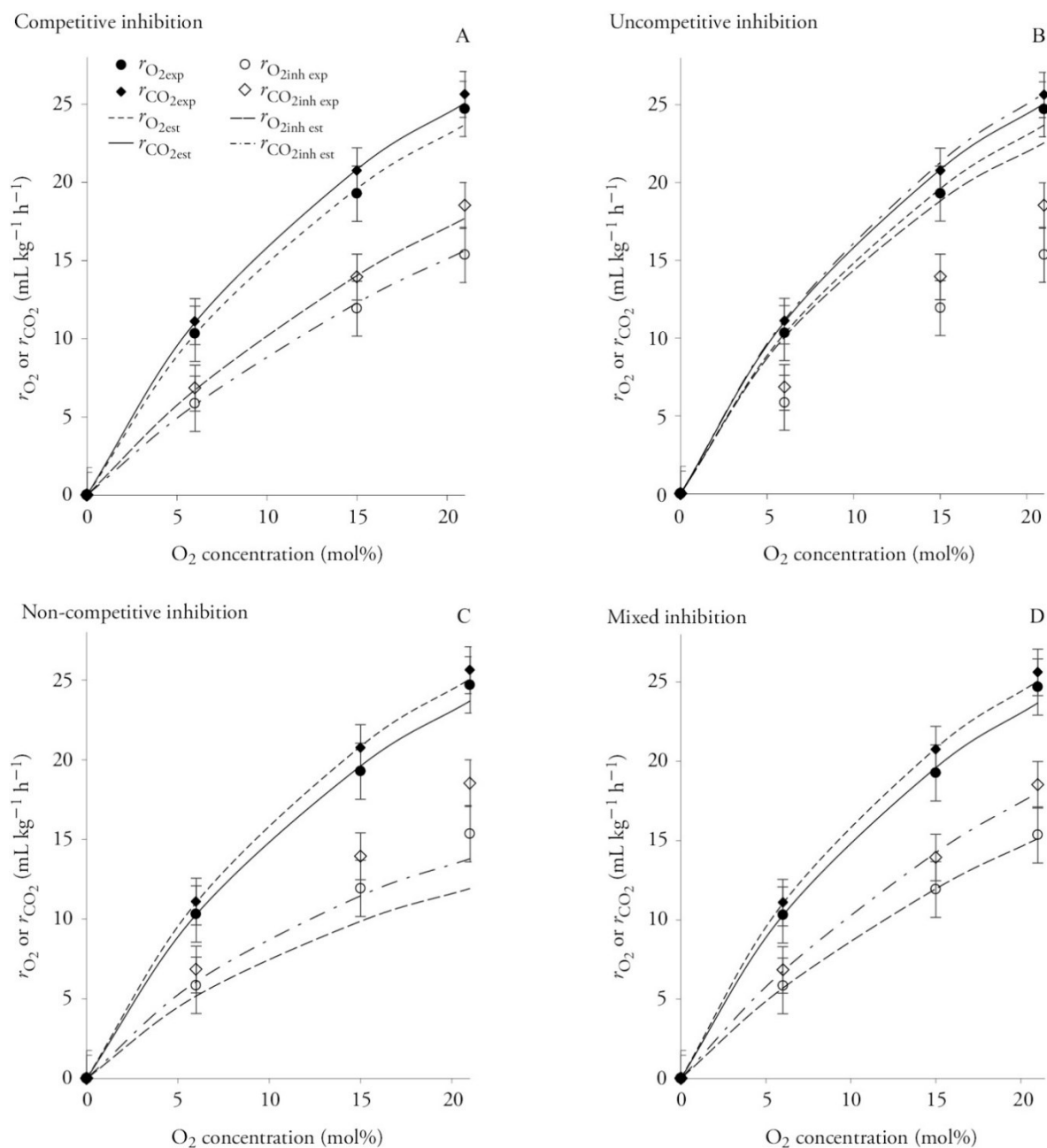


Figure 1. Estimated (est) and experimental (exp) O₂ consumption and CO₂ production rates, in absence and presence of the inhibitor (inh, 8 mol% CO₂) for “Hass” avocado at 8±1 °C. LSD for r_{O_2} =3.53 mL kg⁻¹ h⁻¹ and r_{CO_2} =2.92 mL kg⁻¹ h⁻¹, $\alpha=0.05$).

Figure 1. Velocidades estimadas (est) y experimentales (exp) de consumo de O₂ y producción de CO₂, en ausencia y presencia del inhibidor (inh, 8 %mol CO₂) para el aguacate “Hass” a 8±1 °C. LSD para r_{O_2} =3.53 mL kg⁻¹ h⁻¹ y r_{CO_2} =2.92 mL kg⁻¹ h⁻¹, $\alpha=0.05$).

h⁻¹ at 5 °C when using atmospheres with 2% O₂ and from 6 to 8% CO₂ in “Hass” and “Fuerte” avocado, respectively. The differences can be attributed to the different cultivars, state of maturation, and

de respiración. Este comportamiento fue similar al de otros frutos y vegetales almacenados en atmósferas modificadas (Song *et al.*, 2002; Geysen *et al.*, 2005; Cliffe-Byrnes y O’Beirne, 2007). Las velocidades

harvesting season (Yahia, 1997). The mechanism of action of carbon dioxide in the regulation of the respiratory metabolism in fruit and vegetables is complex. High exposure to CO_2 inhibits the activity of various enzymes involved in the respiration metabolism (Kerbel *et al.*, 1990). On the basis of the law of mass action, high CO_2 concentration causes a reduction of the respiration rate and decreases the energy available for the metabolic processes. CO_2 can cause a less availability of electron donors provided by the Krebs cycle slowing down general metabolism and oxidative phosphorylation, with the consequent decrease in available.

The O_2 consumption and CO_2 production rates in the presence of the inhibitor (8 mol% CO_2) were adequately simulated using the competitive (Figure 1A) and mixed (Figure 1D) inhibition models; considering the four respiration rates for each inhibition model the determination coefficients (R^2) were 0.967 and 0.968, respectively. From the linear regression analysis using the double-reciprocal or Lineweaver-Burk (LB) plot in the competitive inhibition model, the ordinates at the origin (y -intercepts) for the O_2 consumption rate in absence and presence of the inhibitor were very similar (0.020 and 0.022 kg h mL^{-1}), as expected for this model. The ordinates at the origin for the CO_2 production rate, without inhibitor and with inhibitor, were also very close (0.020 and 0.019 kg h mL^{-1}). In the mixed inhibition model there is one extra degree of freedom for the adjustment and that is why the determination coefficient is high ($R^2=0.968$). For this inhibition model, it is not expected that the ordinate at the origin, nor the slope, nor the abscissa at the origin were the same with and without inhibitor.

In the case of the uncompetitive and non-competitive models (Figures 1B and 1C), the respiration rates in the presence of the inhibitor were not satisfactorily estimated ($R^2=0.797$ and $R^2=0.932$), respectively. In the uncompetitive inhibition, the regression analysis using the LB plot showed that the slopes for the O_2 consumption (0.462 and 0.919 $\text{kg h mol\% mL}^{-1}$) and CO_2 production (0.426 and 0.775 $\text{kg h mol\% mL}^{-1}$) without and with inhibitor were different (they should have been similar), causing a bad estimation for both. Similarly, in the non-competitive inhibition models, the abscissas at the origin (x -intercepts) were different for the O_2 consumption rate in absence [-0.044

mínimas para el consumo de O_2 (5.84 $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y la producción de CO_2 (6.84 $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) se obtuvieron para el tratamiento con 6 %mol O_2 y 8 %mol CO_2 . Castellanos *et al.* (2017) reportaron para el aguacate “Hass” velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 de 4.17 a 25 $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 6 °C bajo diferentes concentraciones de gases. Russo *et al.* (2014) reportaron velocidades de producción de CO_2 de hasta 25 $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ y concluyeron que los tratamientos con las concentraciones de CO_2 más elevadas tenían las actividades respiratorias más bajas en aguacate “Fuerte” a 10 ± 1 °C. Ahmed *et al.* (2007) reportaron velocidades de consumo de O_2 de 6.99 a 9.79 y de 3.32 a 6.03 $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 5 °C al emplear atmósferas con O_2 al 2% y CO_2 al 6-8% en aguacate “Hass” y “Fuerte”, respectivamente. Estas diferencias se pueden atribuir a los diferentes cultivares, el estado de maduración y la época de cosecha (Yahia, 1997). El mecanismo de acción del dióxido de carbono en la regulación del metabolismo respiratorio de frutos y vegetales es complejo. La exposición a CO_2 inhibe la actividad de varias enzimas involucradas en el metabolismo respiratorio (Kerbel *et al.*, 1990). Con base en la ley de acción de masas, altas concentraciones de CO_2 disminuyen la velocidad de respiración y la energía disponible para los procesos metabólicos. El CO_2 disminuye la disponibilidad de donadores de electrones proporcionados por el ciclo de Krebs, lo cual disminuye la velocidad del metabolismo en general y la fosforilación oxidativa, lo que a su vez disminuye el ATP disponible.

Las velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 en la presencia del inhibidor (8 %mol CO_2) se simularon adecuadamente con los modelos de inhibición competitiva (Figura 1A) y mixta (Figura 1D); al considerar las cuatro velocidades de respiración para cada modelo de inhibición los coeficientes de determinación (R^2) fueron 0.967 y 0.968, respectivamente. A partir del análisis de regresión lineal por el método de Lineweaver-Burk (LB) o dobles recíprocos en el modelo de inhibición competitiva, las ordenadas al origen (intercepto y) para las velocidades de consumo de O_2 en ausencia y presencia del inhibidor fueron muy similares (0.020 y 0.022 kg h mL^{-1}), conforme a lo esperado para este modelo. Las ordenadas al origen para la velocidad de producción de CO_2 , con y sin inhibidor, también fueron muy similares (0.020 y 0.019 kg h mL^{-1}). Aunado a esto, en el modelo de inhibición mixta hay un grado de

(mol%)⁻¹] and presence [-0.024 (mol%)⁻¹] of the inhibitor, and they should be very close. For the CO₂ production, they were also different, -0.046 (no inhibitor) and -0.024 (mol%)⁻¹ (with inhibitor), respectively.

Estimation of parameters

The maximum rates and the affinity constants for the O₂ consumption rates in absence of the inhibitor (CO₂) were $V_{m_{O_2}} = 49.5 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and $K_{m_{O_2}} = 22.9 \text{ mol\% O}_2$. In the case of the CO₂ production rates, the corresponding kinetic parameters were $V_{m_{CO_2}} = 51.0 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and $K_{m_{CO_2}} = 21.8 \text{ mol\% CO}_2$. Table 1 shows the estimated parameters of the respiration rate models based on the different types of inhibition. The dissociation constants for the enzyme-inhibitor and enzyme-substrate-inhibitor complexes used to model the inhibitory effect of CO₂ on the O₂ consumption rate were $K_{I_{O_2}}^c$, $K_{I_{O_2}}^n$, $K_{I_{O_2}}^{m_1}$ of 8.10 mol% and $K_{I_{O_2}}^u$, $K_{I_{O_2}}^{m_2}$ of 75.7 mol%. For the CO₂ production rate, these dissociation constants were $K_{I_{CO_2}}^c$, $K_{I_{CO_2}}^n$, $K_{I_{CO_2}}^{m_1}$ of 9.78 mol% and $K_{I_{CO_2}}^u$, $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$ of -152.2 mol%. In the competitive inhibition the maximum respiration rates did not change ($V_{m_{O_2,app}} = V_{m_{O_2}}$ and $V_{m_{CO_2,app}} = V_{m_{CO_2}}$) because the inhibitor does not interfere in the dissociation of the enzyme-

libertad adicional para el ajuste, razón por la cual el coeficiente de determinación es alto ($R^2=0.968$). Para este modelo de inhibición no se espera que la ordenada al origen, ni la pendiente o abscisa al origen sean las mismas con o sin inhibidor.

En el caso de los modelos de inhibición acompetitiva y no competitiva (Figuras 1B y 1C), la determinación de las velocidades de respiración en la presencia del inhibidor no fue satisfactoria ($R^2=0.797$ y $R^2=0.932$, respectivamente). En la inhibición acompetitiva, el análisis de regresión con el método LB mostró que las pendientes para el consumo de O₂ (0.462 y 0.919 kg h %mol mL⁻¹) y la producción de CO₂ (0.426 y 0.775 kg h %mol mL⁻¹), con y sin inhibidor, eran diferentes (deberían ser similares), por lo que la estimación de ambas velocidades fue errónea. Igualmente, en los modelos de inhibición no competitiva, las abscisas al origen (intercepto x) fueron diferentes para la velocidad de consumo de O₂ en ausencia [-0.044 (%mol)⁻¹] y presencia [-0.024 (%mol)⁻¹] del inhibidor, y deberían ser muy parecidas. Las velocidades de producción de CO₂ también fueron diferentes, -0.046 (%mol)⁻¹ sin inhibidor y -0.024 (%mol)⁻¹ con inhibidor.

Estimación de parámetros

Las velocidades máximas y las constantes de afinidad para las velocidades de consumo de O₂ en ausencia del inhibidor (CO₂) fueron $V_{m_{O_2}}=49.5 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $K_{m_{O_2}} = 22.9 \text{ mol\% O}_2$. En el caso de las

Table 1. Respiration model parameters for “Hass” avocado at 8±1°C
Cuadro 1. Parámetros del modelo de respiración para el aguacate “Hass” a 8±1°C.

Parameter	Inhibition model			
	Competitive	Uncompetitive	Non-competitive	Mixed
$V_{m_{O_2,app}}$ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	49.5	44.8	24.9	44.8
$V_{m_{CO_2,app}}$ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	51.0	53.9	28.1	53.9
$K_{m_{O_2,app}}$ (mol%)	45.5	20.7	22.9	41.2
$K_{m_{CO_2,app}}$ (mol%)	39.5	22.9	21.8	41.8
$R_{O_2,0\% CO_2}^2$	0.951	0.951	0.951	0.951
$R_{O_2,8\% CO_2}^2$	0.962	0.954	0.957	0.962
$R_{CO_2,0\% CO_2}^2$	0.958	0.958	0.958	0.958
$R_{CO_2,8\% CO_2}^2$	0.987	0.979	0.978	0.988

substrate complex. The apparent affinity constants ($K_{m_{O_2,app}}$ and $K_{m_{CO_2,app}}$) increased in the presence of the inhibitor with respect to those ($K_{m_{O_2}}$ and $K_{m_{CO_2}}$) without inhibitor, according to the kinetic model. In the case of mixed inhibition, the apparent maximum rate decreased for the O_2 consumption rate in the presence of the inhibitor, as it should be. However, for the CO_2 production rate this parameter increased, which is contrary to what the mixed inhibition establishes. The apparent affinity constants for both O_2 and CO_2 increased in the presence of the inhibitor, which indicates that the interaction of the enzyme-inhibitor predominates over that of the enzyme-substrate-inhibitor.

For the uncompetitive inhibition, the apparent maximum rate and affinity constant for O_2 decreased in the presence of the inhibitor in almost the same proportion, according to this type of inhibition. This effect was not found for the CO_2 , because contrary to what was expected, both apparent parameters increased. In the non-competitive inhibition, for both O_2 and CO_2 , the typical behavior was fulfilled, as the apparent maximum rate decreased, and the affinity constant did not change. Thus, given the high determination coefficients, the competitive or mixed inhibition models could be used to predict the O_2 consumption and CO_2 production rates as a function of oxygen and inhibitor concentrations.

Permeability estimations

Figure 2 shows the estimated and experimental total amount (Q) of diffused O_2 through the package as a function of time. In the regression analysis for the linear section of the graph, the amounts of diffused gas corresponding to 0, 0.25, and 0.5 h were not considered, and the steady state was adequately simulated ($R^2=0.999$). The estimated amount of diffused gas was satisfactorily modeled ($R^2=0.999$) using ten terms of the infinite series. The average permeabilities for the package at 8 ± 1 °C were 1.06×10^{-4} and 1.04×10^{-4} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹ for O_2 and CO_2 , respectively.

The order of the obtained permeabilities was higher than those reported for the usual polymer films used in MAP (Robertson, 2012), as well as for those reported for polyamides (Mangaraj *et al.*, 2009). In addition, Castellanos *et al.* (2017) stored avocado fruit in MAP at 12 °C; they used low density polyethylene and polypropylene bags with one

velocidades de producción de CO_2 , los parámetros cinéticos correspondientes fueron $\dot{V}_{m_{CO_2}}=51.0$ mL kg⁻¹h⁻¹ y $K_{m_{CO_2}}=21.8$ %mol CO_2 . El Cuadro 1 presenta los parámetros estimados de los modelos de velocidad de respiración basados en los diferentes tipos de inhibición. Las constantes de disociación de los complejos enzima-inhibidor y enzima-sustrato-inhibidor utilizados para modelar el efecto inhibitorio del CO_2 en la velocidad de consumo de O_2 fueron $K_{I_{O_2}}^c$, $K_{I_{O_2}}^n$, $K_{I_{O_2}}^{m_1}$ de 8.10 %mol y $K_{I_{O_2}}^u$, $K_{I_{O_2}}^{m_2}$ de 75.7 %mol. Para la velocidad de producción de CO_2 , las constantes de disociación fueron $K_{I_{CO_2}}^c$, $K_{I_{CO_2}}^n$, $K_{I_{CO_2}}^{m_1}$ de 9.78 %mol y $K_{I_{CO_2}}^u$, $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$ de -152.2 %mol. En la inhibición competitiva, las velocidades de respiración máximas no cambiaron ($V_{m_{O_2,app}}=V_{m_{O_2}}$ y $V_{m_{CO_2,app}}=V_{m_{CO_2}}$), ya que el inhibidor no interfiere en la disociación del complejo enzima-sustrato. Las constantes de afinidad aparente ($K_{m_{O_2,app}}$ y $K_{m_{CO_2,app}}$) aumentaron en la presencia del inhibidor en comparación con aquellas sin inhibidor ($K_{m_{O_2}}$ y $K_{m_{CO_2}}$), esto conforme al modelo cinético. En el caso de la inhibición mixta, la velocidad máxima aparente disminuyó para la velocidad de consumo de O_2 en la presencia del inhibidor, como se esperaba. Sin embargo, para la velocidad de producción de CO_2 este parámetro aumentó, lo que difiere de lo establecido por la inhibición mixta. Las constantes de afinidad aparente para el O_2 y CO_2 aumentaron en la presencia del inhibidor y esto indica que la interacción del complejo enzima-inhibidor predomina sobre el complejo enzima-sustrato-inhibidor.

Para la inhibición acompetitiva la velocidad máxima aparente y la constante de afinidad para el O_2 disminuyeron en la presencia del inhibidor en casi la misma proporción, lo cual coincide con este tipo de inhibición. Este efecto no se observó para el CO_2 , ya que contrario a lo esperado, ambos parámetros aparentes aumentaron. En la inhibición no competitiva, para el O_2 y el CO_2 , se observó el comportamiento característico; es decir, la velocidad máxima aparente disminuyó y la constante de afinidad no cambió. Así, debido a los elevados coeficientes de determinación, los modelos de inhibición competitiva y mixta se podrían utilizar para predecir las velocidades de consumo de O_2 y producción de CO_2 como una función de las concentraciones de oxígeno y del inhibidor.

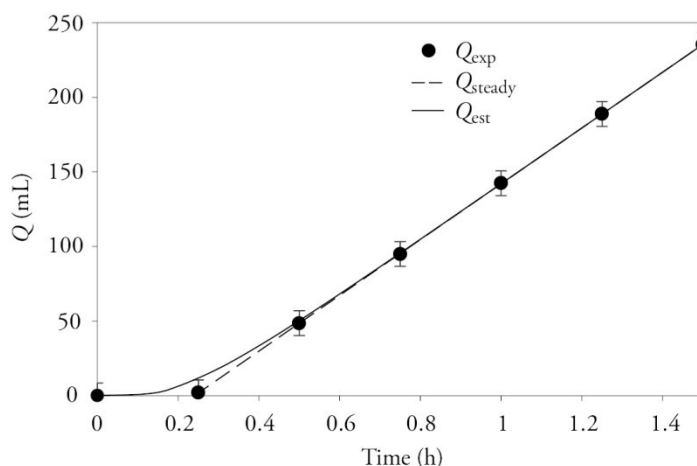


Figure 2. Estimated (est) and experimental (exp) total amount (Q) of diffused O_2 through the package in function of time at 8 ± 1 °C. LSD for $Q=16.7$ mL O_2 , $\alpha=0.05$). The dashed line indicates steady state.

Figura 2. Cantidad total (Q) estimada (est) y experimental (exp) de O_2 difundido a través del empaque en función del tiempo a 8 ± 1 °C. LSD para $Q=16.7$ mL O_2 , $\alpha=0.05$). La línea punteada indica el estado estacionario.

perforation of $280 \mu\text{m}$ and reported permeabilities to O_2 of 3.03×10^{-7} and 6.84×10^{-7} mL cm cm $^{-2}$ h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$, and permeabilities to CO_2 of 1.39×10^{-6} and 5.36×10^{-6} mL cm cm $^{-2}$ h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$, respectively. These differences in permeabilities can be attributed to the quantity and size of the microperforations in the package through which the gases were diffused.

Prediction of the O_2 and CO_2 concentrations inside the MAP

Figure 3 shows the estimated and experimental O_2 and CO_2 concentrations using the inhibition models at 8 ± 1 °C. During the first 48 h of storage, the experimental O_2 concentration inside the MAP rapidly decreased from 21 to 16 mol%, approximately. But the experimental CO_2 concentration progressively increased to establish a relative stability at around 7 mol% after 96 h of storage. The respiration rate was stabilized at 96 h allowing the package to establish a dynamic balance between the internal and external atmosphere. As expected, the atmosphere surrounding the fruit was modified, due to both the respiratory behavior of the fruit and the effect of the microperforations of the package (Radziejewska-Kubzdela and Czaczyk, 2017). This marked drop in O_2 concentration during the first hours of storage was described for other products stored under modified atmosphere packaging, as reported by Song *et al.*

Estimaciones de la permeabilidad

La Figura 2 muestra la cantidad total (Q) estimada y experimental del O_2 difundido a través del empaque en función del tiempo. En el análisis de regresión, para la sección lineal del gráfico, no se consideraron las cantidades de gas difundido a 0, 0.25 y 0.5 h, y el estado estacionario se simuló de forma adecuada ($R^2=0.999$). La cantidad estimada de gas difundido se modeló satisfactoriamente ($R^2=0.999$) utilizando diez términos de la serie infinita. El promedio de las permeabilidades para el empaque a 8 ± 1 °C fue 1.06×10^{-4} y 1.04×10^{-4} mL cm cm $^{-2}$ h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$ para O_2 y CO_2 , respectivamente.

El orden de las permeabilidades obtenidas fue mayor al reportado para los polímeros de las películas que por lo general se usan para los MAP (Robertson, 2012), así como para los reportados para poliamidas (Mangaraj *et al.*, 2009). Además, Castellanos *et al.* (2017) almacenaron frutos de aguacate en MAP a 12 °C, emplearon bolsas de polietileno de baja densidad y de polipropileno con una perforación de $280 \mu\text{m}$, y reportaron permeabilidades al O_2 de 3.03×10^{-7} y 6.84×10^{-7} mL cm cm $^{-2}$ h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$, y al CO_2 de 1.39×10^{-6} y 5.36×10^{-6} mL cm cm $^{-2}$ h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$, respectivamente. Estas diferencias en la permeabilidad se pueden atribuir a la cantidad y tamaño de las microperforaciones en el empaque a través de las cuales se difunden los gases.

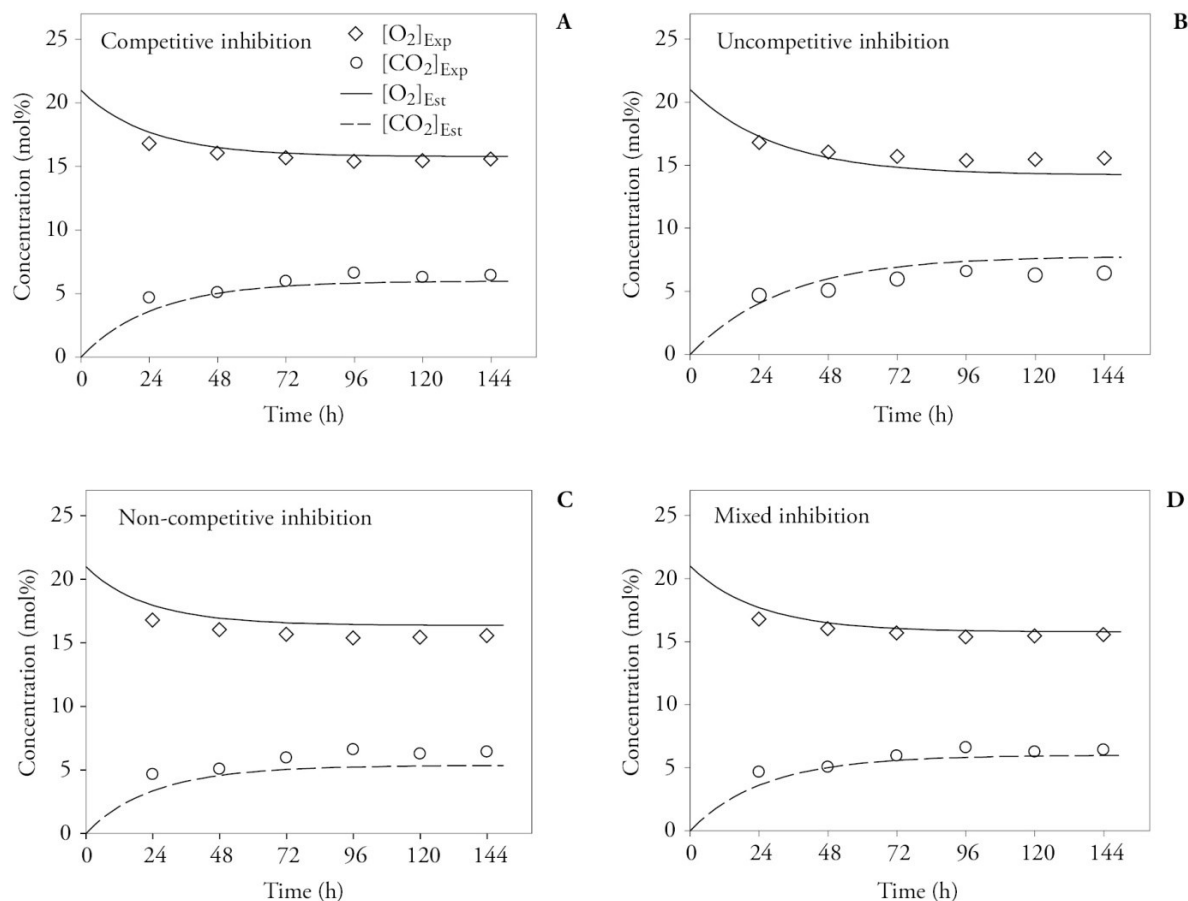


Figure 3. Estimated (est) and experimental (exp) O_2 and CO_2 concentrations inside the MAP with “Hass” avocado at 8 ± 1 °C. LSD for $[O_2] = 0.57$ mol% and $[CO_2] = 0.61$ mol%, $\alpha = 0.05$.

Figura 3. Concentraciones estimadas (est) y experimentales (exp) de O_2 y CO_2 dentro del MAP con aguacate “Hass” a 8 ± 1 °C. LSD para $[O_2] = 0.57$ %mol y $[CO_2] = 0.61$ %mol, $\alpha = 0.05$.

(2002) and Charoenchaitawornchit *et al.* (2002) who modeled the respiration in blackberry stored at 15 °C and mango cv. Nam Dok Mai at 13 °C. They observed a rapid increase in the CO_2 concentration inside the package at the beginning of the storage period.

A good correlation between the predicted and experimental concentrations for both O_2 and CO_2 was obtained using the enzymatic kinetic models with competitive inhibition (Figure 3A) ($R_{O_2}^2 = 0.983$; $R_{CO_2}^2 = 0.976$) and mixed inhibition (Figure 3D) ($R_{O_2}^2 = 0.984$; $R_{CO_2}^2 = 0.975$). This indicates that the predictions for O_2 and CO_2 concentrations using the mass balances with reaction and both competitive or mixed inhibition models adequately estimated

Predicción de las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro del MAP

La Figura 3 muestra las concentraciones estimadas y experimentales de O_2 y CO_2 empleando los modelos de inhibición a 8 ± 1 °C. Durante las primeras 48 h de almacenamiento, la concentración experimental de O_2 dentro del MAP tuvo una rápida disminución de 21 a 16 %mol, aproximadamente. Además, la concentración experimental de CO_2 aumentó de forma progresiva hasta alcanzar una estabilidad relativa a 7 %mol después de 96 h de almacenamiento. La velocidad de respiración se estabilizó a 96 h, lo que favoreció el establecimiento de un equilibrio dinámico dentro del empaque entre la atmósfera interna y externa. Como se esperaba, se obtuvo una atmósfera

the respiration of avocado inside the MAP. Morales-Castro *et al.* (1994) found a reasonable fit between the theoretical and experimental gas concentrations inside microporous packages for sweet corn on cob by using the differential equations from a mass balance. However, in the mixed inhibition model used in this study, the estimated kinetic parameters did not generate the expected behavior, that is, the apparent maximum rate for CO₂ did not decrease with the inhibitor and the dissociation constant of the enzyme-substrate-inhibitor complex for CO₂, $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$ was negative (-152.2 mol%). In the case of the competitive inhibition model (Figure 3A), the estimated kinetic parameters produced the expected behavior, *i. e.*, the apparent affinity constant for both O₂ and CO₂ increased in the presence of the inhibitor, and the determination coefficients for the estimated and experimental concentrations for both O₂ and CO₂ were satisfactory ($R_{O_2}^2=0.983$; $R_{CO_2}^2=0.976$). For this reason, the competitive inhibition model was considered to be the best to estimate both concentrations during the storage of "Hass" avocado in the modified atmosphere package.

The uncompetitive (Figure 3B) and non-competitive (Figure 3D) inhibition models did not show an adequate adjustment ($R_{O_2}^2=0.956$; $R_{CO_2}^2=0.957$ and $R_{O_2}^2=0.989$; $R_{CO_2}^2=0.980$, respectively) to the O₂ and CO₂ concentrations inside the MAP. One of the fundamental aspects in MAP design is the knowledge of the package permeability to the gases for generating relative low O₂ and high CO₂ concentrations. Therefore, simulation using the competitive inhibition equation as the respiration rate model and the mass balance principles estimated the film permeabilities to generate concentrations close to 11 mol% of O₂ and 9.5 mol% of CO₂ (Figure 4), when a passive modified atmosphere is achieved using "Hass" avocado stored at 8 °C. Based on these proposed film permeabilities to O₂ (2.9×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹) and CO₂ (4.1×10^{-5} mL cm cm⁻² h⁻¹ cmHg⁻¹), the estimated O₂ and CO₂ concentrations inside the package after 72 h of storage were 13.1 and 7.9 mol%, respectively. In contrast, with the permeabilities of the package used in the present study, the correspondent concentrations were 16.0 and 5.6 mol%. After 144 h of storage, the estimated concentrations using the proposed film permeabilities were 11.0 and 9.5 mol%; while with the package permeabilities the respective

modificada alrededor del fruto debido al comportamiento respiratorio del mismo y al efecto de las microperforaciones en el empaque (Radziejewska-Kubzdela y Czaczkyk, 2017). Esta disminución marcada en la concentración de O₂ durante las primeras horas de almacenamiento también se ha descrito para otros productos almacenados en empaques con atmósfera modificada, como reportan Song *et al.* (2002) y Charoenchaitawornchit *et al.* (2002) quienes modelaron la respiración en moras almacenadas a 15 °C y mango cv. Nam Dok Mai a 13 °C. Ellos observaron un aumento rápido en la concentración de CO₂ dentro del empaque al inicio del periodo de almacenamiento.

La correlación entre las concentraciones predichas y experimentales de O₂ y CO₂ fue buena con los modelos de cinética enzimática de inhibición competitiva (Figura 3A) ($R_{O_2}^2=0.983$; $R_{CO_2}^2=0.976$) e inhibición mixta (Figura 3D) ($R_{O_2}^2=0.984$; $R_{CO_2}^2=0.975$). Esto indica que las predicciones para las concentraciones de O₂ y CO₂ empleando los balances de masa con reacción y ambos modelos de inhibición, competitiva y mixta, estiman correctamente la respiración del aguacate dentro del MAP. Morales-Castro *et al.* (1994) encontraron un ajuste razonable entre las concentraciones de gas teóricas y experimentales dentro de los empaques con microperforaciones para la mazorca de maíz dulce empleando las ecuaciones diferenciales del balance de masa. Sin embargo, en el modelo de inhibición mixta usado en este estudio los parámetros cinéticos enzimáticos no generaron el comportamiento esperado; es decir, la velocidad máxima aparente para el CO₂ no disminuyó con el inhibidor, y la constante de disociación del complejo enzima-sustrato-inhibidor para el CO₂, $K_{I_{CO_2}}^{m_2}$, fue negativa (-152.2 %mol). En el modelo de inhibición competitiva (Figura 3A), los parámetros de cinética enzimática se comportaron conforme a lo esperado, es decir, la constante de afinidad aparente para el O₂ y CO₂ aumentó en la presencia del inhibidor, y los coeficientes de determinación para las concentraciones estimadas y experimentales de O₂ y CO₂ fueron satisfactorios ($R_{O_2}^2=0.983$; $R_{CO_2}^2=0.976$). Por esta razón, el modelo de inhibición competitiva se consideró el más adecuado para estimar ambas concentraciones durante el almacenamiento del aguacate "Hass" en el empaque con atmósfera modificada.

Los modelos de inhibición acompetitiva (Figura 3B) y no competitiva (Figura 3C) no presentaron

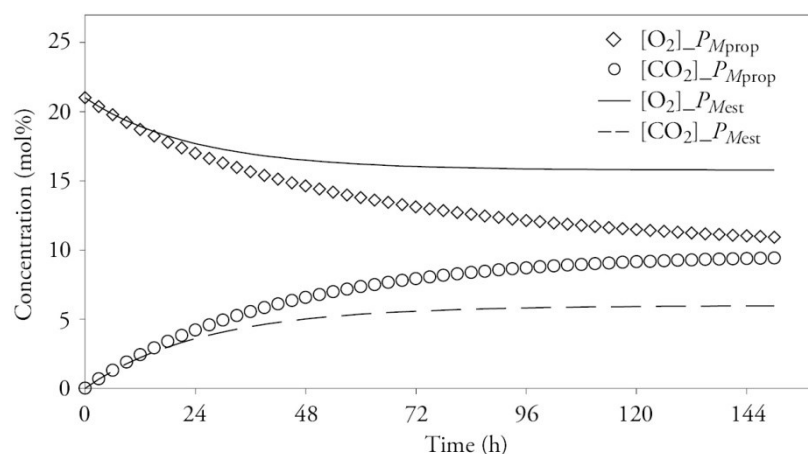


Figure 4. Estimated O_2 and CO_2 concentrations inside a MAP with “Hass” avocado at 8 ± 1 °C using the proposed (prop) and estimated (est) permeabilities.

Figure 4. Concentraciones estimadas de O_2 y CO_2 dentro de un MAP con aguacate “Hass” a 8 ± 1 °C empleando las permeabilidades propuestas (prop) y estimadas (est).

concentrations were 15.8 and 6.0 mol%. The gas concentrations inside the package were stabilized (10.0 and 9.5 mol% for O_2 and CO_2) after 240 h of storage. In this way, improving the permeabilities to O_2 and CO_2 of the package can be useful to prolong the shelf life of the “Hass” avocado.

CONCLUSIONS

The enzymatic kinetics of Michaelis-Menten with competitive inhibition allowed to adequately model the respiratory behavior of “Hass” avocado under different gaseous compositions using a closed system. A good adjustment was obtained for the estimations of O_2 consumption and CO_2 production rates with respect to the experimental ones. Based on the Fick's laws of diffusion, the permeability and the total amount of diffused gas (O_2 and CO_2) through the MAP film were satisfactorily estimated. The mathematical modeling, based on the mass balances in a non-stationary state and the O_2 consumption and CO_2 production rates, described with a model of competitive inhibition, allowed to satisfactorily predict the respiration process of “Hass” avocado stored in a MAP. In addition, the gas concentrations inside the package were simulated with proposed permeabilities in a way the system reaches stable concentrations, which could improve the internal atmosphere and extend the useful life of the “Hass” avocado when it is stored in a MAP.

un ajuste adecuado ($R_{O_2}^2=0.956$; $R_{CO_2}^2=0.957$ y $R_{O_2}^2=0.989$; $R_{CO_2}^2=0.980$, respectivamente) a las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro del MAP. Uno de los aspectos fundamentales en el diseño de MAP es conocer la permeabilidad a los gases para generar concentraciones relativamente bajas de O_2 y altas de CO_2 . Por lo tanto, la simulación con la ecuación de inhibición competitiva como modelo de velocidad de respiración y los principios de balance de masa estimaron las permeabilidades de la película para generar concentraciones cercanas a 11 %mol de O_2 y 9.5 %mol de CO_2 (Figura 4) cuando se alcanza una atmósfera modificada pasiva con aguacate “Hass” almacenado a 8 °C. Con base en estas permeabilidades propuestas al O_2 (2.9×10^{-5} mL cm cm^{-2} h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$) y CO_2 (4.1×10^{-5} mL cm cm^{-2} h $^{-1}$ cmHg $^{-1}$), las concentraciones estimadas de O_2 y CO_2 dentro del empaque después de 72 h de almacenamiento fueron 13.1 y 7.9 %mol, respectivamente. En cambio, con las permeabilidades del empaque empleado en este estudio, las concentraciones correspondientes fueron 16.0 y 5.6 %mol. Después de 144 h de almacenamiento, las concentraciones estimadas con las permeabilidades propuestas de la película fueron 11.0 y 9.5 %mol; mientras que, con las permeabilidades del empaque, las concentraciones correspondientes fueron 15.8 y 6.0 %mol. Las concentraciones de gas dentro del empaque se estabilizaron (10.0 y 9.5 %mol para O_2 y CO_2) después de 240 h de almacenamiento.

LITERATURE CITED

- Ahmed, D., F. Ahmed, A. El-Mongy, B. Abu-Aziz, and A. Yousef. 2007. Postharvest storage of Hass and Fuerte avocados under modified atmosphere conditions. *J. Appl. Sci. Res.* 3: 267-274.
- Bill, M., D. Sivakumar, A. K. Thompson, and L. Korsten. 2014. Avocado fruit quality management during the postharvest supply chain. *Food Rev. Int.* 30: 169-202.
- Castellanos, D. A., R. Mendoza, R. Gavara, and A. O. Herrera. 2017. Respiration and ethylene generation modeling of “Hass” avocado and feijoa fruits and application in modified atmosphere packaging. *International J. Food Prop.* 20: 333-349.
- Charoenchaitawornchit, A., S. Kanlayanarat, and A. Tongta. 2002. Modeling of respiration and modified atmosphere packaging of mango “nam dok mai”. In: *International Conference: Postharvest Unlimited 599*. pp: 489-494.
- Cliffe-Byrnes, V., and D. O’Beirne. 2007. Effects of gas atmosphere and temperature on the respiration rates of whole and sliced mushrooms (*Agaricus bisporus*)—Implications for film permeability in modified atmosphere packages. *J. Food Sci.* 72: E197-E204.
- Crank, J. 1975. *The Mathematics of Diffusion*. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford. 414 p.
- FAOSTAT, R. 2018. Faostat database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (Accessed: September 2019).
- Geysen, S., B. Verlinden, A. Conesa, and B. Nicolai. 2005. Modelling respiration of strawberry (cv. Elsanta) as a function of temperature, carbon dioxide, low and superatmospheric oxygen concentration. *Frutic* 5: 12-16.
- Gomes, M. H., R. M. Beaudry, D. P. Almeida, and F. X. Malcata. 2010. Modelling respiration of packaged fresh-cut ‘Rocha’ pear as affected by oxygen concentration and temperature. *J. Food Eng.* 96: 74-79.
- Hayakawa, K. i., Y. S. Henig, and S. G. Gilbert. 1975. Formulae for predicting gas exchange of fresh produce in polymeric film package. *J. Food Sci.* 40: 186-191.
- Iqbal, T., F. A. Rodrigues, P. V. Mahajan, and J. P. Kerry. 2009. Mathematical modeling of the influence of temperature and gas composition on the respiration rate of shredded carrots. *J. Food Eng.* 91: 325-332.
- Kader, A. A. and M. E. Saltveit. 2003. Respiration and gas exchange. In: *Bartz J. A., A., and J. K. Brecht. (eds). Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. pp: 7-29.
- Kerbel, E. L., A. A. Kader, and R. J. Romani. 1990. Respiratory and glycolytic response of suspension-cultured ‘Passe Crassane’ pear fruit cells to elevated CO₂ concentrations. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 115: 111-114.
- Lee, D., P. Hagggar, J. Lee, and K. Yam. 1991. Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *J. Food Sci.* 56: 1580-1585.
- Lee, D. S., K. L. Yam, and L. Piergiovanni. 2008. *Food Packaging and Science Technology*. CRC Press. Boca Raton, FL. 656 p.
- Mangaraj, S., T. Goswami, and P. Mahajan. 2009. Applications of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables: a review. *Food Eng. Rev.* 1: 133-158.
- Así, al mejorar las permeabilidades al O₂ y CO₂ del empaque se puede extender la vida útil del aguacate “Hass”.

CONCLUSIONES

La cinética enzimática de Michaelis-Menten con inhibición competitiva permitió modelar adecuadamente el comportamiento respiratorio del aguacate “Hass” almacenado en un sistema cerrado bajo diferentes condiciones gaseosas. Una buena correlación se obtuvo de las estimaciones de las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂ con respecto a las experimentales. Con base en las leyes de difusión de Fick, la permeabilidad y la cantidad total de gas difundido (O₂ y CO₂) a través de la película del MAP se estimaron satisfactoriamente. Los modelos matemáticos, basados en los balances de masa en un estado no estacionario y las velocidades de consumo de O₂ y producción de CO₂, descritas con un modelo de inhibición competitiva, permitieron predecir el proceso de respiración del aguacate “Hass” almacenado en un MAP. Además, las concentraciones de gas dentro del empaque se simularon con las permeabilidades propuestas de forma que el sistema alcance concentraciones estables, lo cual podría mejorar la atmósfera interna y extender la vida útil del aguacate “Hass” almacenado en un MAP.

—Fin de la versión en Español—



- Mangaraj, S., and T. Goswami. 2011. Modeling of respiration rate of litchi fruit under aerobic conditions. *Food Bioprocess Technol.* 4: 272-281.
- Millar, A. H., J. Whelan, K. L. Soole, and D. A. Day. 2011. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62: 79-104.
- Montgomery, D. C. 2017. *Design and Analysis of Experiments*. 9th ed. John Wiley & Sons Inc. New York. 630 p.
- Morales-Castro, J., M. Rao, J. Hotchkiss, and D. Downing. 1994. Modified atmosphere packaging of head lettuce. *J. Food Process. Pres.* 18: 295-304.
- Oliveira, F., M. Sousa-Gallagher, P. Mahajan, and J. Teixeira. 2012. Development of shelf-life kinetic model for modified atmosphere packaging of fresh sliced mushrooms. *J. Food Eng.* 111: 466-473.
- Pandey, S. K., and T. K. Goswami. 2012. Modelling perforated mediated modified atmospheric packaging of capsicum. *Int. J. Food Sci. Tech.* 47: 556-563.

- Perez, K., J. Mercado, and H. Soto-Valdez. 2004. Note. Effect of storage temperature on the shelf life of Hass avocado (*Persea americana*). Food Sci. Technol. Int. 10: 73-77.
- Radziejewska-Kubzdela, E., and K. Czaczyk. 2017. The effect of organic acid pretreatment and modified atmosphere on shelf life of dry coleslaw mix. J. Food Process. Pres. 41: e13044.
- Rennie, T., and S. Tavoularis. 2009. Perforation-mediated modified atmosphere packaging. Part II. Implementation and numerical solution of a mathematical model. Postharvest Biol. Technol. 51: 10-20.
- Robertson, G. L. 2012. Food Packaging: Principles and Practice. 3rd ed. CRC press. New York. 734 p.
- Russo, V. C., E. R. Daiuto, R. L. Vietes, and R. E. Smith. 2014. Postharvest parameters of the "Fuerte" avocado when refrigerated in different modified atmospheres. J. Food Process. Pres. 38: 2006-2013.
- SIAP. 2019. Sagarpa database. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> (Accessed: September 2019).
- Song, Y., N. Vorsa, and K. L. Yam. 2002. Modeling respiration-transpiration in a modified atmosphere packaging system containing blueberry. J. Food Eng. 53: 103-109.
- Xiao, L., and M. Kiyota. 2000. Design of a modified atmosphere package for retaining freshness of avocado (*Persea americana*) fruits. Environ. Control Biol. 38: 157-164.
- Yahia, E. 1997. Modified/Controlled Atmospheres for Avocado (*Persea Americana* Mill). In: Proceedings. 3: 13-18. Davis: University of California.
- Yahia, E. M. 1998. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. In: Janick, J. (ed). Horticultural Reviews. J. Wiley & sons, Inc. New York. 22: 123-183.
- Yahia, E. M. 2012. Avocado. In: D. Rees, G. Farrell, and J. Orchard (eds). Crop Post-Harvest: Science and Technology: Perishables. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. 3: 159-186.