

**CALIDAD DE LECHUGA MANTECA
OBTENIDA BAJO DIFERENTES MÉTODOS
DE CULTIVO: CARACTERIZACIÓN INICIAL
Y EVOLUCIÓN DURANTE EL
ALMACENAMIENTO EN ATMÓSFERA
MODIFICADA.**

María Gabriela Goñi

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito
parcial para optar al Título de

***Magister Scientiae* en Producción Vegetal**

Orientación Horticultura

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Balcarce, Argentina.

JULIO 2011.



RINFI es desarrollado por la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

**CALIDAD DE LECHUGA MANTECA
OBTENIDA BAJO DIFERENTES MÉTODOS
DE CULTIVO: CARACTERIZACIÓN INICIAL
Y EVOLUCIÓN DURANTE EL
ALMACENAMIENTO EN ATMÓSFERA
MODIFICADA.**

María Gabriela Goñi

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito
parcial para optar al Título de

***Magister Scientiae* en Producción Vegetal**

Orientación Horticultura

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Balcarce, Argentina.

JULIO 2011.

**CALIDAD DE LECHUGA MANTECA
OBTENIDA BAJO DIFERENTES MÉTODOS
DE CULTIVO: CARACTERIZACIÓN INICIAL
Y EVOLUCIÓN DURANTE EL
ALMACENAMIENTO EN ATMÓSFERA
MODIFICADA.**

MARÍA GABRIELA GOÑI

Dra. Sara Inés Roura

Directora de Tesis

Dra. María del Rosario Moreira

Asesora

Dra. Karina Cecilia Di Scala

Asesora

**CALIDAD DE LECHUGA MANTECA
OBTENIDA BAJO DIFERENTES MÉTODOS
DE CULTIVO: CARACTERIZACIÓN INICIAL
Y EVOLUCIÓN DURANTE EL
ALMACENAMIENTO EN ATMÓSFERA
MODIFICADA.**

MARÍA GABRIELA GOÑI

Aprobada por:

.....
Evaluador

.....
Evaluador

.....
Evaluador

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo hubiese sido imposible sin la colaboración de varias personas e instituciones. Por ello es un verdadero placer utilizar este espacio para expresar mis más sinceros agradecimientos:

- ✓ Agradecer de manera especial a mi directora Sara por aceptarme para realizar este trabajo y tenerme paciencia. Su apoyo y capacidad de guía han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora.

- ✓ Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento a Charo por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis; y a Karina por su participación, su asesoría ha enriquecido notablemente el trabajo realizado.

- ✓ Gracias también a mis compañeros del Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos, quienes me apoyaron y me dieron una mano innumerable veces: Vito, Ale, Rober, Catalina, Cintia, Vicky, Olinda y Luis.
Sólo puedo expresar palabras de agradecimiento por los momentos compartidos.

- ✓ Por supuesto, el agradecimiento más profundo y sentido va para mi familia, mi mamá y hermanos quienes en todo momento me brindaron su apoyo y aliento. A mis amigos, que entienden mis ausencias y nunca hacen un reclamo.

- ✓ Finalmente, debo agradecer a la Facultad de Ingeniería de la UNMdP por darme el lugar de trabajo, a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas por el financiamiento de mis estudios de posgrado mediante las becas y subsidios.

Gracias a todos.

Al Ingeniero Carlos del Valle, quien me abrió la puerta a la investigación. Siempre lo recordaré con cariño y admiración.

ÍNDICE

| | Página |
|---|---------------|
| I- INTRODUCCIÓN GENERAL..... | 1 |
| A. OBJETIVO GENERAL | 6 |
| B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 6 |
| C. HIPÓTESIS | 6 |
| | |
| II- CAPÍTULO 1: CALIDAD INICIAL | 7 |
| A. INTRODUCCIÓN | 7 |
| 1. Cultivo de la lechuga | 7 |
| 2. Factores precosecha que afectan la calidad de la lechuga | 9 |
| 3. Uso de invernaderos | 10 |
| 4. Uso de cobertura de suelos | 13 |
| 5. Calidad | 16 |
| a. Calidad sensorial | 16 |
| b. Calidad nutricional | 20 |
| c. Calidad sanitaria | 22 |
| B. MATERIALES Y MÉTODOS | 25 |
| 1. Cosecha y preparación de las unidades experimentales | 25 |
| 2. Diseño por anillos o zonas | 26 |
| 3. Determinaciones de calidad al momento de la cosecha | 27 |
| a. Peso de la planta | 27 |
| b. Área de las hojas | 28 |
| c. Número de hojas y peso por zona | 28 |
| d. Estado del agua | 28 |
| e. Color | 31 |
| f. Contenido de ácido ascórbico reducido | 31 |
| g. Recuentos microbiológicos | 32 |
| h. Análisis sensorial | 32 |
| 4. Análisis estadístico | 33 |
| C. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 35 |
| 1. Peso de las plantas | 35 |
| 2. Área de las hojas | 35 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Número de hojas y peso por zona | 36 |
| 4. Estado del agua | 42 |
| a. Contenido de agua relativo | 42 |
| b. Contenido de agua | 45 |
| c. Contenido de agua libre, agua unida y relación agua libre/ agua total | 46 |
| 5. Color | 51 |
| a. Parámetros L^* a^* b^* | 51 |
| b. Índice de color | 54 |
| 6. Contenido de ácido ascórbico reducido | 57 |
| 7. Recuentos microbiológicos | 61 |
| 8. Análisis sensorial | 63 |
| a. Pardeamiento enzimático en la zona de corte | 63 |
| b. Pardeamiento enzimático en hojas | 64 |
| c. Textura | 65 |
| d. Color y brillo en las hojas | 66 |
| D. CONCLUSIÓN | 68 |
| | |
| III- CAPÍTULO 2: CALIDAD POSTCOSECHA | 71 |
| A. INTRODUCCIÓN | 71 |
| 1. Calidad postcosecha y vida útil | 71 |
| 2. Uso de tecnologías postcosecha | 76 |
| 3. Tecnología de obstáculos | 77 |
| a. Almacenamiento refrigerado | 77 |
| b. Humedad relativa | 78 |
| c. Envasado en atmósferas modificadas | 79 |
| B. MATERIALES Y MÉTODOS | 85 |
| 1. Preparación de las unidades experimentales | 85 |
| 2. Determinaciones de calidad durante el almacenamiento refrigerado en atmósfera modificada | 86 |
| a. Evolución de la atmósfera en el espacio de cabeza | 86 |
| b. Pérdida de peso | 87 |
| c. Estado del agua | 87 |
| d. Color | 87 |

| | |
|--|------------|
| e. Contenido de clorofila | 88 |
| f. Contenido de ácido ascórbico reducido | 88 |
| g. Recuentos microbiológicos | 89 |
| h. Análisis sensorial | 89 |
| 3. Análisis estadístico | 90 |
| C. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 92 |
| 1. Evolución de la atmósfera en el espacio de cabeza | 92 |
| 2. Pérdida de peso | 100 |
| 3. Estado del agua | 101 |
| a. Contenido de agua relativo | 101 |
| b. Contenido de agua | 106 |
| c. Contenido de agua libre, agua unida y relación agua libre/ agua total | 110 |
| 4. Color | 117 |
| a. Parámetros L^* a^* b^* | 118 |
| b. Índice de color | 126 |
| 5. Contenido de clorofila | 134 |
| 6. Contenido de ácido ascórbico reducido | 138 |
| 7. Recuentos microbiológicos | 144 |
| 8. Análisis sensorial | 153 |
| a. Pardeamiento enzimático en la zona de corte..... | 153 |
| b. Pardeamiento enzimático en hojas | 156 |
| c. Textura en las hojas | 163 |
| d. Color y brillo en las hojas | 168 |
| D. CONCLUSIÓN | 175 |
| IV- CONCLUSIÓN GENERAL | 178 |
| V- BIBLIOGRAFÍA..... | 180 |
| V- ANEXOS..... | 198 |
| A. IMÁGENES | 199 |
| B. INFORMACIÓN TÉCNICA | 212 |

INDICE DE TABLAS

| | Página |
|--|---------------|
| Tabla 1 | 36 |
| Comparación de las medias del área de las hojas de lechuga manteca según el efecto principal anillo. | |
| Tabla 2 | 37 |
| Comparación de las medias del número de hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). | |
| Tabla 3 | 39 |
| Comparaciones de las medias de la relación peso zona/peso planta en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). | |
| Tabla 4 | 43 |
| Comparaciones de las medias del contenido de agua relativo (CAR) de las hojas de lechuga manteca según el efecto principal anillo y el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional erra). | |
| Tabla 5 | 46 |
| Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA) de las hojas de lechuga manteca según el efecto principal anillo y el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Tabla 6 | 49 |
| Comparación de las medias del contenido de agua libre (AL) de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. | |
| Tabla 7 | 49 |

Comparación de las medias del contenido de agua unida (AU) de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo.

Tabla 8 **50**

Comparación de las medias de la relación agua libre/agua total (AL/AT) en hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo.

Tabla 9 **53**

Comparaciones de las medias de los parámetros de color L^* , a^* , b^* y del índice de color (IC) de las hojas de lechuga manteca, según el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional).

Tabla 10 **53**

Comparaciones de las medias de los parámetros de color L^* , a^* , b^* y del índice de color (IC) de las hojas de lechuga manteca, según el efecto principal anillo.

Tabla 11 **58**

Comparación de las medias del contenido de ácido ascórbico (AA) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo.

Tabla 12 **62**

Comparación de las medias de los recuentos de bacterias aerófilas mesófilas totales (logUFC/gTF) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo.

Tabla 13 **65**

Comparación de las medias de los puntajes asignados al descriptor textura al tacto (TXT) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna).

Tabla 14 **66**

Comparación de las medias de los puntajes asignados al descriptor color y brillo de las hojas (CyB) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna).

Tabla 15 94

Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción tipo de atmósfera (activa, pasiva y control) y día.

Tabla 16 95

Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y día.

Tabla 17 95

Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 18 104

Comparaciones de las medias del contenido de agua relativo (CAR) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 19 105

Comparaciones de las medias del contenido de agua relativo (CAR) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la plantas (externa, media e interna).

Tabla 20 108

Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional).

Tabla 21 109

Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna).

Tabla 22 **123**

Comparaciones de las medias del parámetro de color **b*** en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la plantas (externa, media e interna).

Tabla 23 **125**

Comparaciones de las medias del parámetro **b*** en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 24 **130**

Comparaciones de las medias del índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la plantas (externa, media e interna).

Tabla 25 **131**

Comparaciones de las medias del índice de color (IC) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 26 **136**

Comparaciones de las medias del contenido de clorofila (CLO) lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna).

Tabla 27 **136**

Comparaciones de las medias del contenido de clorofila (CLO) lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional).

| | |
|---|------------|
| Tabla 28 | 136 |
| Comparaciones de las medias del contenido de clorofila (CLO) lechuga manteca para la interacción día y zona (externa, media e interna). | |
| Tabla 29 | 141 |
| Comparaciones de las medias del contenido en ácido ascórbico (AA) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Tabla 30 | 141 |
| Comparaciones de las medias del contenido en ácido ascórbico (AA) en lechuga manteca para la interacción día y zona (externa, media e interna). | |
| Tabla 31 | 148 |
| Comparaciones de las medias de los recuentos de bacterias microaerófilas mesófilas (BMM) en lechuga manteca al momento de la cosecha para la interacción zona (externa, media e interna) y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Tabla 32 | 151 |
| Comparaciones de las medias de los recuentos de bacterias microaerófilas psicrófilas (BMP) al momento de la cosecha en lechuga manteca para la interacción zona (externa, media e interna) y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Tabla 33 | 155 |
| Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Tabla 34 | 156 |
| Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Tabla 35 | 159 |

Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en las hojas (PEH) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la plantas (externa, media e interna).

Tabla 36 160

Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en las hojas (PEH) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 37 165

Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor textura al tacto en las hojas (TXT) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

Tabla 38 171

Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor color y brillo en las hojas (CyB) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la plantas (externa, media e interna).

Tabla 39 172

Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor color y brillo en las hojas (CyB) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control).

INDICE DE FIGURAS

Página

| | |
|--|-----------|
| Figura 1 | 27 |
| Lechuga manteca, indicando las hojas que componen el anillo 1. | |
| Figura 2 | 29 |
| Disposición en la hoja de lechuga de los rectángulos cortados para las determinaciones del estado del agua. | |
| Figura 3 | 36 |
| Área de las hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 4 | 38 |
| Cantidad de hojas en plantas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la zona (externa, media e interna). | |
| Figura 5 | 42 |
| Contenido relativo de agua (CRA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 6 | 45 |
| Contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 7 | 47 |
| Contenido de agua libre (AL), agua unida (AU) y la relación agua libre/ agua total (AL/AT) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |

| | |
|---|-----------|
| Figura 8 | 52 |
| Parámetros de color L^* , a^* y b^* en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 9 | 55 |
| Índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 10 | 57 |
| Contenido en ácido ascórbico (AA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 11 | 61 |
| Recuentos de bacterias aerófilas mesófilas totales (logUFC/gTF) de lechuga manteca, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). | |
| Figura 12 | 63 |
| Puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Figura 13 | 64 |
| Puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en las hojas (PEH), textura al tacto (TXT) y color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna). | |
| Figura 14 | 93 |
| Evolución del $\%O_2$ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |

| | |
|---|------------|
| Figura 15..... | 96 |
| Evolución del consumo de O ₂ de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 16..... | 98 |
| Ajuste lineal de las medias estimadas del consumo de O ₂ de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 17..... | 103 |
| Evolución del contenido relativo de agua (CRA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 18..... | 107 |
| Evolución del contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 19..... | 110 |
| Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Figura 20..... | 112 |
| Evolución del contenido de agua libre (AL) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 21..... | 113 |
| Evolución del contenido de agua unida (AU) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e | |

invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 22..... 114

Evolución de la relación agua libre/ agua total (AL/AT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 23..... 119

Evolución del parámetro de color L^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 24..... 121

Evolución del parámetro de color a^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 25..... 122

Evolución del parámetro de color b^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 26..... 127

Evolución del índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 27..... 133

Ajuste lineal de las medias estimadas del índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo,

invernadero mulch e invernadero tradicional y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 28..... 135

Evolución del contenido en clorofila (CLO) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 29..... 137

Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido en clorofila (CLO) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional).

Figura 30..... 139

Evolución del contenido en ácido ascórbico (AA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 31..... 140

Evolución de la retención de ácido ascórbico (AA/AA_0) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 32..... 142

Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido en ácido ascórbico, expresado como $\ln(AA)$, en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional).

Figura 33..... 145

Evolución del recuento de bacterias aerófilas mesófilas totales (BAMT) en hojas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

| | |
|---|------------|
| Figura 34..... | 149 |
| Evolución del recuento de bacterias aerófilas mesófilas totales (BMM) en hojas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 35..... | 150 |
| Evolución del recuento de bacterias aerófilas mesófilas totales (BMP) en hojas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 36..... | 154 |
| Evolución del puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). | |
| Figura 37..... | 157 |
| Evolución del puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en hojas (PEH) en lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 38..... | 162 |
| Ajuste lineal de las medias estimadas del puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento en hojas (PEH) en lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 39..... | 163 |
| Evolución del puntaje medio asignado al descriptor textura al tacto (TXT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). | |
| Figura 40..... | 167 |

Ajuste lineal de las medias estimadas del puntaje medio asignado al descriptor textura al tacto (TXT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 41..... 169

Evolución del puntaje medio asignado al descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona externa, media e interna) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura 42..... 173

Ajuste lineal de las medias estimadas del puntaje medio asignado al descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control).

Figura I 200

Lechuga manteca proveniente de invernadero con cobertura plástica del suelo (*I-mulch*).

Figura II 201

Lechuga manteca proveniente de invernadero tradicional (*I.trad*)

Figura III 202

Lechuga manteca proveniente de campo (*campo*).

Figura IV 203

Escala de pardeamiento enzimático en la zona de corte utilizada por los jueces para el análisis sensorial.

Figura V 205

Ejemplos de pardeamiento enzimático en hojas de lechuga manteca.

Figura VI 206

Color, brillo y textura de las hojas de lechuga manteca, según el método de cultivo.

| | |
|--|------------|
| Figura VII | 207 |
| Lechuga manteca en bolsa de polietileno (control) al momento del envasado. | |
| Figura VIII | 208 |
| Lechuga manteca en bolsa de material barrera PD960 (atmósfera modificada pasiva y/o activa) al momento del envasado. | |
| Figura IX | 209 |
| Lechuga manteca proveniente de l.mulch almacenada en atmósfera modificada pasiva. | |
| Figura X | 210 |
| Lechuga manteca proveniente de l.mulch almacenada en atmósfera modificada pasiva. | |
| Figura XI | 211 |
| Lechuga manteca proveniente de l.mulch almacenada en atmósfera modificada pasiva. | |
| Figura XII | 213 |
| Envasadora de vacío utilizada para el sellado de las bolsas en los envases con atmósfera modificada pasiva y control; y para el intercambio de gases en los envases con atmósfera modificada activa. | |
| Figura XIII | 214 |
| Ficha técnica del material barrera utilizado para el envasado de lechuga manteca en atmósfera modificada. | |

RESUMEN

Palabras clave: *precosecha, postcosecha*, invernadero, mulch, vegetales de hoja.

En la presente tesis se propuso seleccionar el método de cultivo adecuado para obtener lechuga manteca (*Lactuca sativa* var. Lores) que prolongue su vida útil postcosecha con mayor retención de los índices de calidad. Para llevar a cabo este objetivo general, se identificó el efecto que tiene el método de cultivo utilizado en la producción primaria de lechuga manteca sobre los indicadores de calidad inicial y sobre la evolución de los mismos durante el almacenamiento refrigerado, combinado con el envasado en atmósfera modificada.

Se analizó la calidad inicial (nutricional, sensorial y microbiológica) de lechuga manteca proveniente de tres quintas del cinturón hortícola de Sierra de los Padres que utilizan diferentes métodos de cultivo: invernadero tradicional, invernadero con cobertura plástica del suelo (*mulch*) y campo; y se las almacenó a la temperatura óptima (0 - 2 °C) en tres tipos de atmósfera: activa, pasiva y control para el posterior análisis de la evolución de los índices de calidad. Se estudió la distribución de los indicadores de calidad en las plantas de lechuga al momento de la cosecha, mediante un diseño experimental en anillos.

Se logró identificar que el uso de invernaderos frente al cultivo a campo, permitiría obtener plantas de lechuga que presentan al momento de la cosecha mejores índices de calidad nutricional y especialmente sensorial. Paralelamente se determinó que en lechuga existe una zonificación de los indicadores de calidad, siguiendo un diseño de anillos, definidos en función de la ubicación de la hoja en la planta. Esta información es fundamental al momento de definir el destino del producto y para la selección de la tecnología postcosecha que será utilizada para mantener su calidad durante el período de comercialización.

Durante el almacenamiento se logró determinar que el uso de invernaderos en la producción primaria de lechuga manteca permite, no solo obtener un producto con mayor calidad inicial, sino también con mejor tolerancia al almacenamiento refrigerado, sin diferencias significativas entre las plantas provenientes de invernadero tradicional o con *mulch*.

La utilización de atmósferas modificadas en plantas provenientes de invernadero no mostró una mejora significativa en la retención de los indicadores de calidad o extendiendo la vida útil. En este caso, la refrigeración de las plantas (0 - 2 °C) en un envase que prevenga la deshidratación sería suficiente para un almacenamiento de al menos 14 días. Por otro lado, el uso de atmósferas modificadas para el almacenamiento de las lechugas provenientes de campo sí mostró un beneficio importante, permitiendo incrementar la vida útil del producto de 4 a 10 días.

ABSTRACT

Key Words: *preharvest, postharvest, greenhouse, mulch, leafy vegetables.*

In the present thesis it was proposed the selection of the appropriate production system for Butterhead lettuce (*Lactuca sativa* var. *Lores*) to extend self life with greater quality indices retention during postharvest refrigerated storage. To accomplish this main objective, the effect that the production system used in the primary production of Butterhead lettuce has on the initial quality indices and their evolution during refrigerated storage combined with modified atmosphere packaging, was identified.

The initial quality (nutritional, sensorial and microbiological) of Butterhead lettuce, harvested from three farms in Sierra de los Padres that used different growing methods: traditional greenhouse (bare soil), greenhouse soil with plastic mulching (mulch) and open field was analyzed; they were also stored at the optimum temperature (0 - 2 °C) in three different packaging atmospheres: active, passive and control, to assess the evolution of the quality indices. The distribution of quality indicators of lettuce plants at harvest was determined, using an experimental design based in rings.

It was identified that the use of greenhouses for the production of lettuce in opposition to open field, would produce lettuce plants that have better quality at harvest (nutritional and sensorial in particular) with extended shelf life. Alongside it was determined that there was a zonation of the quality indices within the plant, following the ring design, according to the location of the leaf on the plant. This information is critical when deciding the fate of the product and the selection of postharvest technology to be used to maintain its quality during the marketing chain.

During postharvest storage it was determined that the use of greenhouses in the primary production of Butterhead lettuce allows not only a product with higher initial quality, but with better tolerance to refrigerated storage, without significant differences between plants from bare soil or mulch.

The use of modified atmosphere from greenhouse plants showed no significant improvement in the retention of quality indicators or shelf life. In this case, refrigerated

storage (0 - 2 °C) in a package that prevent dehydration would be sufficient for a postharvest storage of at least 14 days. On the other hand, the use of modified atmosphere storage of lettuce from field did show a significant benefit, allowing for increased shelf life of 4 to 10 days.

PUBLICACIONES

Hasta el momento, surgieron del presente trabajo las siguientes publicaciones:

- Goñi, María G., Agüero, María V., Moreira, María del R., Ponce, Alejandra y Roura, Sara I. 2010. RING CHARACTERIZATION OF QUALITY INDICES IN BUTTERHEAD LETTUCE CULTIVATED UNDER MULCH AND BARE SOIL. *J. Food Quality*. 33:439-460.
- Goñi, MG, Agüero, MV, Ponce, AG, Moreira, MR y Roura, SI. 2009. CARACTERIZACIÓN DE LECHUGA MANTECA OBTENIDA POR DIFERENTES MÉTODOS DE CULTIVO. XII CONGRESO CYTAL–AATA, Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, Entre Ríos, Argentina, 7- 9 de octubre. Trabajo Completo.
- Goñi, M.G.; Moreira, M.R.; Di Scala, K.C. and Roura, S.I. 2010. GROWING METHOD AS QUALITY DETERMINANT OF BUTTERHEAD LETTUCE AT HARVEST AND DURING POSTHARVEST STORAGE. International Conference on Food Innovation, foodInnova 2010. Valencia, Spain. 25-29 october 2010. Complete article.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las tendencias alimenticias actuales posicionan a los vegetales de hoja como parte indispensable de la dieta por ser fuente importante de vitaminas, fibras y compuestos con propiedades funcionales. Los consumidores actuales exigen alimentos de elevada calidad y están más informados sobre los requerimientos nutricionales para mantener una dieta saludable. Estos hechos desencadenan el consumo de vegetales de hoja, que se ha incrementado en la última década (Kader, 2002; Rediers *et al.*, 2009). La ingesta de vegetales frescos ha sido asociado a la prevención de algunas enfermedades como varios tipos de cáncer, principalmente relacionado a la presencia de sustancias antioxidantes que previenen el daño oxidativo (Kader, 2002; Di Benedetto, 2005). Dentro de los vegetales de hoja, la lechuga es la más consumida, especialmente fresca y en productos “listos para consumir” (Wießner *et al.*, 2009). La producción de lechuga en Argentina se ha incrementado en un 4,1 %, en el período que va desde 2000 a 2005 (Ferrato; Mondino, 2008). El consumo *per capita* en Argentina es alto, cercano a los 20 Kg/año y continúa en aumento (Esparza.Rivero *et al.*, 2006; Agüero *et al.*, 2008). La inclusión de lechuga en la dieta contribuye a mejorar la calidad nutricional, ya que aporta fibras, vitaminas A, C y E, carotenoides, calcio, potasio y magnesio, con el beneficio adicional de tener bajo contenido calórico, entre 13 y 18 kcal/100 g (Ensminger; Konlande, 1993).

En la cadena de comercialización de vegetales frescos existen muchas etapas que están interrelacionadas. Son productos manipulados por varias personas, transportados y almacenados repetidas veces entre la cosecha y el consumo, lo que tiene incidencia sobre las pérdidas por deterioro. La calidad de los vegetales de hoja debe tener en cuenta el aspecto sensorial, el nutricional y la inocuidad. A pesar de los avances realizados en las tecnologías de preservación postcosecha en los últimos años, una de las causas más comunes que inciden sobre las pérdidas de calidad, continúa siendo la manipulación poco cuidadosa de los vegetales durante las primeras horas posteriores a la cosecha.

Los vegetales frescos, luego de ser cosechados, continúan siendo tejidos vivos y se encuentran sometidos a continuos cambios durante la postcosecha. Si bien algunos de estos cambios son deseables (asociados a la maduración del producto) la mayoría no son deseables para los consumidores. La senescencia, que ocurre

indefectiblemente en los tejidos maduros, lleva asociada cambios irreversibles que ocasionan disminuciones importantes de la calidad. Estos cambios que ocurren durante la postcosecha, si bien no pueden ser evitados, es posible reducir la velocidad a la que ocurren. Agregado a esta actividad fisiológica, los tejidos vegetales presentan diversidades morfológicas, diferencias en la composición nutricional y en la fisiología general que los requerimientos y recomendaciones para maximizar la vida útil sean diferentes para cada tipo de producto (Kader, 2002).

En el caso de los vegetales de hoja, como la lechuga, la comercialización en fresco o mínimamente procesados, representa un desafío particular por ser un alimento altamente perecedero, con alto contenido acuoso y de elevada fragilidad mecánica. Cualquier proceso que se aplique a la lechuga, resultará en cambios en el metabolismo y en la fisiología como respuesta al estrés ocasionado. Por esto, entender los procesos de degradación que ocasionan la disminución de la calidad postcosecha es fundamental para el desarrollo de tecnologías tendientes a extender la vida útil y mantener la calidad a lo largo de la cadena de comercialización (Corbo *et al.*, 2006; Hodges; Toivonen, 2008). Poulsen *et al.* (1995) han informado el efecto de algunas variables precosecha sobre el comportamiento fisiológico de lechuga crespa. Las lesiones en los tejidos producidas durante el corte, causan la ruptura de la membrana celular lo que permite que los sustratos intracelulares se pongan en contacto con las enzimas y desencadenen las reacciones de deterioro (Delaquis *et al.*, 1999; Kader, 1992). Conjuntamente con las reacciones enzimáticas, tienen lugar otros procesos fisiológicos en respuesta al daño mecánico como son: el aumento de la velocidad de respiración y la liberación del etileno (Kader, 1992).

En general, es aceptado que un vegetal que ha sido sometido a situaciones de estrés antes de la cosecha tendrá menor vida útil (Hodges; Toivonen, 2008). El aseguramiento de la calidad se inicia desde la precosecha, debe continuar con técnicas de cosecha adecuadas y desde las primeras horas de cosechado se deben controlar las condiciones ambientales durante toda la cadena de comercialización. Por lo antes expuesto, la calidad de los vegetales se ve influenciada tanto por factores precosecha como postcosecha. Conocer el efecto que las variables precosecha ejercen sobre la calidad inicial de la lechuga es un factor clave para un procesamiento postcosecha exitoso, siendo muchas veces subestimados. Además, es conocido que las variables precosecha como: métodos de cultivo, tipo y nivel de fertilización, uso de

pesticidas, irrigación, temperatura, entre otras, afectan significativamente el rendimiento y calidad inicial de los vegetales (Kays, 1999; Ponce *et al.*, 2003).

La lechuga manteca (*Lactuca sativa* cv. *Lores*) perteneciente a la familia de las *Asteráceas*, vegetal que principalmente es consumido fresco en ensaladas que constituye una especie muy difundida en los cinturones hortícolas de las grandes ciudades, entre ellos el de la ciudad de Mar del Plata. En la zona de Sierra de los Padres, donde se produce la mayor cantidad de la lechuga manteca de la región, los métodos de cultivo más utilizados por los productores son: campo, invernadero tradicional y el invernadero en combinación con la cobertura plástica del suelo, denominada *mulching*.

La comercialización de lechuga manteca presenta dos grandes problemas, uno debido al mal manejo postcosecha, y el otro debido a la variabilidad intrínseca del vegetal en términos de calidad al momento de la cosecha. Esta variabilidad se debe principalmente a la variedad y a las condiciones ambientales durante el período de crecimiento (Galvis-Sánchez *et al.*, 2004). En la presente tesis se propone analizar la calidad de lechuga abarcando dos aspectos: efecto del método empleado para cultivar lechuga sobre indicadores de calidad inicial y a continuación, analizar la vida útil durante el almacenamiento postcosecha. Para cada método ensayado, se empleará como tecnología de preservación el control de atmósferas en el envase.

Los principales objetivos de la aplicación de tecnologías postcosecha son: mantener la calidad, garantizar la inocuidad y reducir las pérdidas durante el almacenamiento. Factores postcosecha tales como temperatura, humedad relativa, composición de la atmósfera de empaque, presencia de luz, área de daño, etc. definen la vida útil de la lechuga (Moreira *et al.*, 2006). La evolución de la calidad postcosecha depende principalmente de un adecuado control de la temperatura y la humedad relativa. Las condiciones de manejo en todas las etapas de la cadena de comercialización, desde el momento de la cosecha hasta que llega al consumidor final, contribuyen a disminuir las pérdidas de calidad. La disminución de la velocidad de respiración reduce los procesos degradativos fisiológicos que conducen a la senescencia de la hoja (Wiley, 1997; Kader, 1992; Del Novile *et al.*, 2006).

El concepto global de calidad tiene en cuenta el aspecto sensorial, la inocuidad y el aspecto nutricional. La apariencia de la lechuga es el criterio principal utilizado para medir la calidad a lo largo de la cadena de comercialización y es fundamental al momento de decidir la compra (Kays, 1999; Kader, 2002). Sin embargo, debe aclararse que los consumidores juzgan la calidad de los productos vegetales en base a la apariencia y la frescura al momento de la compra, pero deciden comprarlos nuevamente si el producto cumplió con sus expectativas, respecto a textura y sabor (Kader, 2002), concepto aplicable a la lechuga.

El uso de atmósferas modificadas consiste en el control de gases en el espacio de cabeza del envase. En general, bajos niveles de O_2 y altos de CO_2 retrasan los procesos de maduración, reducen la velocidad de respiración y controlan el crecimiento microbiano (Kader, 1992). La modificación de la atmósfera puede ser, pasiva a través de la propia respiración del vegetal, o activa por reemplazo total del aire por una mezcla de gases de composición óptima (variable según el vegetal). En el envasado en atmósfera modificada pasiva, la obtención de la atmósfera óptima no es inmediata, lo que sí ocurre en el envasado activo. El retraso en la obtención de condiciones favorables de la atmósfera dentro del envase podría producir cambios en las respuestas metabólicas del producto, con efectos apreciables sobre la calidad.

La vida útil de la lechuga es un parámetro de calidad importante durante toda la cadena de comercialización. La lechuga es un sistema complejo, en el que las reacciones químicas, los mecanismos fisiológicos y enzimáticos y el crecimiento microbiano se encuentran en actividad constante, lo que hace de la evaluación de la vida útil una ardua tarea (Ansorena *et al.*, 2009). Los índices necesarios para poder evaluar la calidad en lechuga son numerosos y deben ser ponderados, ya que su importancia relativa depende del destino del producto, de las tendencias del mercado y de los productores (Zwietering *et al.*, 1993). Por otra parte, los ensayos en alimentos de vida útil en tiempo real requieren gran cantidad de recursos (materiales y humanos) y tiempo, resultando en elevados costos (Ansorena *et al.*, 2009). El modelado matemático de la evolución de los índices de calidad tiene el potencial de reducir la complejidad aparente de algunos problemas y facilitar la llegada a una solución, así como la presentación más clara de los resultados y las conclusiones. El modelado matemático permite relacionar los diferentes índices de calidad con las variables de

operación, tanto durante la producción primaria como durante la manipulación y el almacenamiento postcosecha.

Son muy escasos los estudios sobre la evolución de índices de calidad de lechuga desde la cosecha hasta el consumidor (Giannakourou; Taoukis, 2003). Más aún, los trabajos que modelan las cinéticas de degradación de indicadores de calidad postcosecha, teniendo en cuenta además, algunos factores precosecha, son innovadores y pertenecen a un área de vacancia. En esta área, Ponce *et al.* (2008) han analizado el efecto de la aplicación de *mulching* sobre la microflora nativa de lechuga y la evolución de las diferentes poblaciones microbianas durante el almacenamiento.

Si bien el uso de la tecnología de atmósferas modificadas ha sido ampliamente citado, estudios comparativos entre los beneficios del uso de atmósferas pasivas y activas sobre la evolución de indicadores de calidad de lechuga son escasos. En este trabajo, se establecerá el efecto que algunas variables precosecha tienen sobre indicadores de calidad inicial y sobre la evolución de los mismos, mediante la aplicación de la tecnología de atmósferas modificadas en combinación con el almacenamiento refrigerado. Este método de preservación se aplicará como una tecnología compatible con la postcosecha de vegetales orgánicos. La nueva tendencia del consumidor es hacia el consumo de alimentos inocuos, nutritivos y libres de aditivos (Winter; Davis, 2009). Los vegetales de producción orgánica se presentan como una franja del mercado de gran potencial futuro (Zhao *et al.*, 2007; Corbo *et al.*, 2006).

A. OBJETIVO GENERAL

- **Seleccionar un método de cultivo adecuado para lechuga manteca, que rinda una mayor vida útil postcosecha con mayor retención de los indicadores de calidad, mediante la aplicación del control de atmósferas.**

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar el efecto de los diferentes sistemas de producción de lechuga manteca (campo, invernadero tradicional e invernadero con uso de *mulching*) sobre indicadores de calidad inicial y sobre la evolución de los mismos durante el almacenamiento con control de atmósfera.
2. Determinar la evolución de la atmósfera de empaque utilizando películas de permeabilidad conocida en lechuga manteca almacenada en condiciones de temperatura óptima.
3. Establecer el beneficio del uso del envasado en atmósferas modificadas activas vs. pasivas sobre la vida útil de lechuga manteca y sobre los indicadores de calidad nutricionales, microbiológicos y sensoriales.

C. HIPÓTESIS

1. El método de producción empleado en la obtención de la lechuga manteca (campo, invernadero tradicional e invernadero con uso de *mulching*) afecta los indicadores fisiológicos, microbiológicos y nutricionales, con impacto en la respuesta metabólica del producto y en la calidad inicial del mismo.
2. El método de producción empleado en la obtención de la lechuga manteca (campo, invernadero tradicional e invernadero con uso de *mulching*) afecta los indicadores fisiológicos, microbiológicos y nutricionales, con impacto en el modelo que representa la evolución durante el almacenamiento.
3. La aplicación de atmósferas modificadas activas desde el momento de la cosecha extiende la vida útil de la lechuga manteca respecto a la aplicación de atmósferas modificadas pasivas.

II - CAPITULO 1: CALIDAD INICIAL

A. INTRODUCCIÓN

1. Cultivo de la lechuga

La lechuga es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial y nacional. Su importancia radica en que se cultiva todo el año, concentrándose la producción en las cercanías de La Plata y Mar del Plata. Los establecimientos donde se produce este cultivo están altamente especializados y realizan un uso intensivo de mano de obra e insumos.

La Lechuga es una planta anual que pertenece a la familia Asteraceas. En estado vegetativo posee un tallo corto carnoso de 2 a 5 cm., en el cual se insertan las hojas formando una cabeza compacta. El sistema radicular es denso y superficial, con gran número de raíces adventicias en los primeros 30 cm. Dentro de las variedades botánicas, la variedad manteca es muy cultivada por su elevada aceptación entre los consumidores quienes aprecian su succulencia y agradable color verde claro. Estas lechugas se caracterizan por presentar cabezas medianas (200 – 400 g), cerradas pero poco compactas, de hojas succulentas y nervaduras prominentes (Galván; Rodríguez, 1999).

El ciclo de cultivo de la lechuga posee cuatro fases claramente diferenciadas: germinación - emergencia, formación de la roseta, formación de la cabeza y la emisión del tallo floral o reproductiva (Di Benedetto, 2005), siendo las tres primeras las responsables de la acumulación de masa y por lo tanto las determinantes del rendimiento. El periodo de crecimiento es relativamente corto, permitiendo varios turnos de cosecha por ciclo anual (Di Benedetto, 2005) lo que maximiza la producción e incrementa la rentabilidad. El número de hojas puede ser utilizado como indicador de desarrollo (Galván; Rodríguez, 1999) separando el crecimiento vegetativo de las variedades de lechuga que forman cabeza, en tres etapas:

- Plántula: desde la emergencia a la aparición de la tercer o cuarta hoja verdadera. Esta etapa dura de 3 a 6 semanas en función de las condiciones ambientales (especialmente debido a la temperatura).

- Roseta: comienza a disminuir la relación largo/ancho de las láminas foliares, los pecíolos se hacen sumamente cortos o desaparecen. En esta etapa la planta llega a 12 – 14 hojas verdaderas.
- Formación de la cabeza: es el órgano de reserva, con hojas preformadas o no completamente desarrolladas en un arreglo compacto, fotosintéticamente activas. Continúa el descenso de la relación largo/ancho en las hojas nuevas, acompañado por un curvamiento de la nervadura central sobre el punto de crecimiento de la planta (crecimiento erecto). Se restringe así el crecimiento de las hojas nuevas desarrolladas en el ápice, que quedan rodeadas por las externas, formándose la cabeza.

La tasa de crecimiento (como función del peso fresco) es exponencial en todo el ciclo del cultivo. En los últimos 20 días puede ocurrir hasta un 60% del crecimiento total (Galván; Rodríguez, 1999).

Durante la germinación, la temperatura óptima es de 15 a 20 °C. Temperaturas mayores a 25- 30 °C producen en la semilla termodor mancia, que consiste en que los tegumentos de la semilla se vuelven impermeables al oxígeno, inhibiendo la germinación, proceso que se revierte al bajar la temperatura (Di Benedetto, 2005). Otro factor que influye en la germinación de las plantas, es la fotoblastia positiva: la germinación se ve favorecida por las longitudes de onda del rojo (600 nm) e inhibida por longitudes de luz infrarroja (735 nm). Esto cobra importancia al momento de la siembra ya que una profundidad de siembra excesiva puede disminuir el porcentaje de germinación (Galván; Rodríguez, 1999).

Normalmente, el cultivo se lleva a cabo mediante la modalidad de almácigo y transplante lo que rompe la dominancia apical y facilita la regeneración de raíces adventicias, resultando un sistema radicular más ramificado y superficial (Galván; Rodríguez, 1999). La mayoría del peso fresco de la lechuga es agua (95 %) (Di Benedetto, 2005) y sumando a que el sistema radicular es poco profundo, es de vital importancia el aporte de agua constante y uniforme a lo largo del cultivo. El riego es importante en la estación cálida para prevenir estrés hídrico, y en la estación fría para prevenir los daños por heladas. Habitualmente el riego se realiza por goteo, ya que el riego por aspersión o por inunde favorecen la aparición de enfermedades microbianas (especialmente *Esclerotinia*).

La distancia entre plantas oscila comúnmente entre 25 a 30 cm., en surcos de 0.8 - 1.0 m. de ancho, resultando en densidades del orden de 60000 a 75000 plantas por hectárea. El número de plantas por hectárea y el peso promedio de éstas son los componentes que determinan el rendimiento final. Las temperaturas recomendadas para el adecuado crecimiento, durante el desarrollo vegetativo, varían entre 15 y 20 °C, con un mínimo de 7 °C y un máximo de 25 °C. Es fundamental la diferencia entre la temperatura diurna y nocturna, fundamentalmente para la correcta formación de la cabeza (Di Benedetto, 2005). En general para un buen acogollado, las temperaturas diurnas deben ser de 17 – 25 °C, mientras que las nocturnas 3 - 12 °C. En períodos con escasa iluminación las lechugas acogollan mal si el régimen térmico es superior a los 20 °C, mientras que en estas condiciones de iluminación deficitaria, el acogollado se ve favorecido por la ocurrencia de bajas temperaturas. En condiciones de fotoperíodos largos y fuertes iluminaciones, el acogollamiento puede verse favorecido por temperaturas del orden de los 20 °C. La planta es relativamente resistente a las bajas temperaturas, aunque heladas severas cercanas a la cosecha provocan daños, disminuyendo su valor comercial. Las altas temperaturas producen plantas de cabezas laxas, favorecen la aparición de quemaduras en los bordes de las hojas (*Tipburn*), sabores amargos a las hojas e inducen la floración prematura.

2. Factores precosecha que afectan la calidad de la lechuga

Es importante identificar y evaluar las interacciones que se producen entre los diferentes componentes de la calidad en lechuga y correlacionarlos con los métodos de evaluación objetiva de la calidad. Esta información es esencial para la selección de nuevos cultivares, nuevas prácticas culturales, determinar el momento óptimo de cosecha y para la posterior selección de las tecnologías postcosecha más adecuadas (Kader, 1992). Para prolongar la vida útil de la lechuga y a la vez mantener su valor nutritivo y asegurar la inocuidad del producto, como alimento que será consumido fresco, es necesario partir de materias primas de elevada calidad (Conte *et al.*, 2008). Está aceptado que un producto vegetal que ha sido sometido a situaciones de estrés durante el período de crecimiento tendrá una menor vida útil postcosecha (Hodges; Toivonen, 2008).

Muchos trabajos de investigación previamente publicados estudian los efectos del estrés abiótico en los aspectos fisiológicos, bioquímicos y/o de expresión de genes

durante el desarrollo y crecimiento de las plantas (Hodges; Toivonen, 2008). Kays (1999) realizó una extensa revisión de los diferentes factores precosecha que afectan la calidad de las frutas y hortalizas. Otro trabajo más reciente (Moretti *et al.*, 2010) realizó una extensa revisión del efecto del cambio climático en la calidad de frutas y vegetales, indicando en el mismo la importancia de las condiciones durante el período de desarrollo ya que pueden afectar la fotosíntesis, la respiración, las relaciones hídricas y la estabilidad de la membrana. Por ejemplo, la temperatura media a la que es expuesta la planta durante el desarrollo es determinante para estimar el índice de cosecha ya que el incremento de la temperatura media durante la etapa de crecimiento y desarrollo de la planta produciría una maduración más temprana (Moretti *et al.*, 2010).

Existe también mucha información acerca del impacto del procesamiento y del estrés postcosecha sobre la calidad de los vegetales de hoja. Sin embargo, son pocos los estudios que analizan los efectos del estrés abiótico durante la producción primaria (precosecha) (Kader, 2002, Galvis - Sánchez *et al.*, 2004, Frezza *et al.*, 2007) y muy pocos aun los que utilizan lechuga como objeto de estudio. Varios de los estudios realizados se basan en la producción orgánica y sus efectos en el rendimiento y en la calidad nutricional de los vegetales obtenidos por ambos métodos (Moreira *et al.*, 2003).

La calidad de la lechuga depende del cultivar a utilizar, las prácticas culturales, las condiciones climáticas, la madurez al momento de la cosecha y el método de cosecha (Kader, 2002). En los últimos años, los productores se han focalizado en las técnicas de manejo que permitan una mayor productividad pero haciendo hincapié en la calidad del suelo con el objetivo de buscar sistemas productivos sustentables a largo plazo. El impacto ambiental de las prácticas culturales debe ser tenido en cuenta como componente integral de la calidad del producto obtenido ya que es importante para el marketing del mismo.

3. Uso de invernaderos

La lechuga se adapta mejor a climas frescos y húmedos, por lo que es en otoño y primavera cuando más fácil se hace la producción de este cultivo. En el cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata, el cultivo de lechuga se realiza

durante todo el año, siendo primavera - verano las estaciones más propicias para el cultivo a campo. En cultivos bajo cubierta (invernaderos fríos) prácticamente no existen restricciones para el cultivo en las diferentes épocas del año y, por lo general, la siembra obedece a la demanda del mercado y los ciclos de producción. El cultivo se realiza casi en su totalidad mediante almácigo y transplante. El pequeño tamaño de las semillas de lechuga dificulta la siembra directa en campo a la profundidad y densidad adecuadas. Además las semillas son muy exigentes respecto de las condiciones ambientales durante la germinación. Esto puede subsanarse utilizando plantineras para la germinación de las semillas en bandejas plásticas multicelda (tipo *speedling*), en las que mediante el uso de sustratos adecuados y condiciones de temperatura, riego y luz controladas se promueve el crecimiento de plántulas sanas y vigorosas que favorecen la posterior implantación. El período de germinación puede prolongarse entre 25 - 40 días. Las plántulas libres de defectos se transplantan luego de 25 – 40 días, cuando poseen entre 3 – 6 hojas verdaderas, una altura de entre 4 – 6 cm. y abundante desarrollo radicular, que garantice una correcta implantación, ya sea a campo o invernadero.

Existe una tendencia actual entre los productores de hortalizas, de utilizar el cultivo forzado o semiforzado haciendo uso de invernaderos para producir fuera de estación. La aparición de los plásticos en la agricultura permitió la implementación de los “invernaderos ligeros” consistentes en simples estructuras de madera cubiertas con películas de polietileno de baja densidad. Estos invernaderos han tenido gran aceptación debido a que cuestan poco y porque su construcción es sencilla (Alpi; Tognoni, 1991). Los cultivos más comúnmente producidos bajo cubierta son el tomate, la lechuga, la espinaca y el apio. En Argentina, el uso de invernaderos se ha incrementado cerca del 6 % en los últimos años. Según datos de la Comisión Argentina de Plásticos para la Agricultura (CAPPA) durante el ciclo 2009/2010, el total de hectáreas cultivadas bajo cubierta en todo el país llegó a las 5000 hectáreas, 3200 de las cuales se encuentran en la provincia de Buenos Aires (Stavisky, 2010). Del total de invernaderos en la zona, el 84 % corresponde a la obtención de hortalizas.

La horticultura es una actividad importante en la zona que rodea a la ciudad de Mar del Plata, especialmente en Sierra de los Padres. Las condiciones agroecológicas de la zona son favorables para el cultivo de numerosas especies hortícolas, se cultivan alrededor de 45 especies a lo largo de todo el año. En esta zona, se localiza el 65 %

de la producción de papa, zanahoria y vegetales de hoja, especialmente lechuga. La producción abastece el mercado local y parte de la demanda de otros grandes centros de consumo (Capital Federal, Gran Buenos Aires, Bahía Blanca, entre otros). Existen aproximadamente 500 productores en la zona, con el 80 % de la superficie cultivada perteneciente al 35 % de los productores. La superficie cultivada en la zona en 2007 fue superior a las 11000 hectáreas, de las cuales 2900 correspondieron al cultivo de lechuga, representando el 26 % del total (Di Benedetto, 2008). En 1998 se estimó que más de 80 hectáreas eran utilizadas para el cultivo bajo cubierta plástica, cantidad que se ha incrementado considerablemente en los últimos años. En un relevamiento realizado en el 2007 por la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP) se encontró que las hectáreas destinadas al cultivo bajo cubierta plástica llegan a más de 250 hectáreas (Di Benedetto, 2008). Las estimaciones para el 2009/2010 de la CAPP, indican 450 hectáreas de cultivo bajo cubierta en la zona de Mar del Plata (Stavisky, 2010).

La producción de hortalizas está fuertemente ligada a la oferta agroclimática y a los requerimientos térmicos de las diferentes especies. La lechuga es una especie que no tolera las altas temperaturas y los fotoperíodos largos (Di Benedetto, 2005, Dufault *et al.*, 2009), en estas condiciones se produce la floración prematura o "*bolting*" antes de que la planta haya alcanzado un tamaño comercializable e impidiendo la correcta formación de la cabeza. Las altas temperaturas producen cambios morfológicos en las hojas que se vuelven más largas y menos anchas lo que produce cabezas laxas y les otorga un sabor amargo (Dufault *et al.*, 2009).

Los productores requieren que la temporada productiva para lechuga se alargue lo más posible para incrementar los rendimientos y abarcar un sector mayor del mercado, lo que presenta un riesgo productivo ya que también incrementa la ocurrencia del *bolting*. Esta dependencia puede disminuirse con el uso de invernaderos ya que permite una siembra más temprana.

Casi la totalidad de los invernaderos utilizados son tipo capilla (o comúnmente denominados a dos aguas) y con estructura de madera. En la zona de Mar del Plata, el uso de los invernaderos es diferente al de otras zonas donde las condiciones son más controladas y reguladas en forma activa. Aquí el control de las condiciones ambientales es natural, siguiendo las características climáticas de la zona, sin aporte

extra de calor o refrigeración o luz. Las ventajas de estas prácticas están asociadas al aumento de la productividad y a conseguir productos de mejor calidad, con mayor uniformidad y presentación. Sin embargo, el cultivo bajo cubierta lleva aparejado el aumento en la inversión inicial y el mayor costo de producción. Se requiere mayor capacitación de los operarios pero se logran acortar los ciclos productivos u obtener productos tempranos o “primicias”, incrementando así la rentabilidad para el productor.

Los invernaderos son ampliamente utilizados en la producción de lechuga ya que permiten disminuir las situaciones de estrés ambiental a las que pueden ser sometidas las plantas, lo que se traduce en beneficios económicos por el aumento en el rendimiento y la posibilidad de producirla todo el año. Dentro de un invernadero comercial las plantas crecen con mayores niveles de agua, temperaturas mas elevadas, lo que lleva a ciclos más cortos que en el campo.

4. Uso de cobertura de suelos

El uso de coberturas en el suelo produce modificaciones en el microambiente que rodea la planta, tanto en la parte aérea como en la radicular (Maged *et al.*, 2006). La cobertura del suelo puede reducir la evaporación, el crecimiento de malezas, la erosión debida al viento y al agua y la lixiviación de fertilizantes. La cobertura del suelo contribuye a mejorar la calidad del mismo, no sólo debido al potencial hídrico sino a que aumenta el contenido de materia orgánica (Abawi; Widmer, 2000; Li *et al.*, 2004). El uso de coberturas del suelo evita las fluctuaciones de temperatura en los primeros 20 a 30 cm. de profundidad (Moreno; Moreno, 2008) y puede tener efecto en los componentes del balance de energía y en la resistencia estomática, lo que a su vez repercutiría en un efecto fisiológico que afectaría el crecimiento y desarrollo (Fitter; Hay, 2001; Chaves *et al.*, 2002). Sin embargo, los mecanismos fisiológicos que inducen el cambio en la respuesta de las plantas al nuevo entorno no han sido adecuadamente investigados (Munguia *et al.*, 2004).

Existen diferentes tipos de coberturas de suelo. El primer material utilizado como cobertura fueron los restos vegetales. Esta cobertura orgánica ha demostrado una mejora considerable en la calidad del suelo debido a la reducción de la evaporación y al incremento del contenido de materia orgánica. Este aumento se ha relacionado con incrementos en la productividad ya que aumenta la disponibilidad de

nutrientes para las plantas y propicia un ambiente físico favorable para el desarrollo y crecimiento (Abawi; Widmer, 2000; Maged *et al.*, 2006). Varios estudios se han realizado sobre el efecto de la cobertura del suelo orgánica en la productividad de granos y vegetales (Li *et al.*, 2004). Sin embargo, el uso de paja como material de cobertura se limita a zonas áridas y cálidas ya que, si bien mejora el potencial hídrico del suelo, también disminuye la temperatura superficial del mismo (Li *et al.*, 2004).

La introducción a las prácticas agrícolas de los materiales de cobertura plásticos permite solucionar esta limitación, ampliando la aplicación de cobertura del suelo a zonas templadas y frías. (Li *et al.*, 2004). El efecto del uso de *mulching* plástico se ha estudiado en maíz, algodón, pera, frutilla, lechuga y otros productos (Li *et al.*, 2004; Moreno; Moreno, 2008), tanto para cultivos de invierno como de verano, encontrando que el incremento en la productividad es considerable.

El uso de *mulching* plástico en Argentina ocupa aproximadamente 6000 hectáreas, incluyendo tanto el cultivo a campo como el bajo cubierta. El crecimiento de esta práctica se debe a la mejora en los materiales plásticos: son más livianos y a la vez presentan mayor resistencia mecánica. Los espesores típicos varían entre 20 y 25 μm y casi la totalidad del material utilizado es negro opaco (Stavisky, 2010).

Los *films* plásticos afectan el microclima que rodea la planta al modificar la integral de radiación incidente en la superficie y por la reducción en la evaporación del agua. La disminución en la evaporación resulta en un suelo con un contenido hídrico uniforme y permite disminuir el riego suplementario requerido. El polietileno lineal de baja densidad (PEBDL, o LLDPE según sus siglas en inglés) es el plástico más utilizado debido a que es de fácil procesamiento, tiene excelente resistencia química, alta durabilidad, es flexible y resistente al daño mecánico y es inodoro, comparado con otros polímeros plásticos (Espí *et al.*, 2006).

Dependiendo de las propiedades del material utilizado para la cobertura (reflexión, transmisión y absorción), será el grado de influencia en el microclima del cultivo (Munguia *et al.*, 2004). Los plásticos pueden transmitir, absorber o reflejar una parte de la radiación incidente en cada una de las longitudes de onda del espectro electromagnético según el color; algunos pueden transmitir casi toda la radiación en una longitud de onda, mientras que otros pueden absorber o reflejar fuertemente la

radiación en otra longitud de onda (Munguia *et al.*, 2004; Moreno; Moreno, 2008). Varios colores de *mulch* han sido utilizados para incrementar el rendimiento y la calidad de los productos vegetales. Los plásticos claros reflejan mayor cantidad de radiación que los oscuros y tienden a minimizar los cambios en la temperatura del suelo mientras que se incrementa la radiación que recibe el canopeo. El color del plástico puede producir cambios cualitativos y cuantitativos en las longitudes de onda reflejadas, lo que tiene incidencia en la tasa de crecimiento y en las características morfológicas de la planta (Agüero *et al.*, 2008). En la zona de Mar del Plata, el *mulch* más utilizado es de color negro, lo que produce un incremento en la temperatura del suelo y absorbe mayor radiación.

La calidad de la lechuga puede afectarse por exceso y/o por defecto de intensidad de luz. Excesos de luz resultan en quemado por el sol, degradación de pigmentos y estrés hídrico debido al aumento de la temperatura del suelo y del canopeo. En cambio, la deficiencia en la cantidad o calidad de radiación incidente puede resultar en plantas de menor tamaño o en ciclos más largos para que la planta alcance un tamaño comercial. Munguia *et al.* (2004) reportaron una diferencia de 35 W/m² entre plantas en suelo descubierto y plantas en suelo cubiertas con LLDPE negro. La radiación neta incidente en las plantas con *mulch* fue mayor que en las de suelo descubierto, debido a que el plástico negro absorbe el 96 % de la radiación solar, mientras que el suelo desnudo solo absorbe el 76 %.

Las propiedades microbiológicas del suelo tienen el potencial de ser indicadoras tempranas del estrés del suelo y cambios en la producción. Existen evidencias de que las modificaciones en la dinámica microbiana pueden ser utilizadas para determinar si una práctica de manejo tiene impacto ambiental o edáfico (Jinbo *et al.*, 2007; Moreno; Moreno, 2008). Los microorganismos del suelo responden directamente a los cambios que se producen en las condiciones ambientales, por lo tanto conocer los efectos del uso de *mulching* sobre la dinámica microbiana es necesario. Así mismo, el aumento en el contenido hídrico del suelo y la temperatura que se producen por el uso del *mulch* plástico podrían tener un impacto en la cantidad y composición de las comunidades microbianas (Moreno; Moreno, 2007). Los microorganismos patógenos pueden llegar a la lechuga por medio de partículas de suelo o del abono utilizado (Fischer-Arndt *et al.*, 2010).

5. Calidad

La calidad se define como el conjunto de atributos que debe cumplir un producto para satisfacer las expectativas de los consumidores. Esto es complejo en la lechuga ya que son varios los requisitos impuestos por el mercado actual. La calidad de la lechuga al momento de la cosecha puede estudiarse desde diferentes puntos de vista, pudiendo definirse la calidad total como la suma de la calidad sensorial, calidad nutritiva y calidad sanitaria.

Varios aspectos del producto contribuyen a la calidad de la lechuga, incluyendo buena apariencia, altos rendimientos, resistencia a enfermedades, aptitud para el transporte y el procesamiento y estabilidad al almacenamiento postcosecha y seguridad (Rico *et al.*, 2007, Conte *et al.*, 2008). Sin embargo, es importante destacar que una lechuga que cumpla con los requerimientos nutricionales no será aceptada por los consumidores, si no les agrada el sabor u otro atributo de calidad sensorial (Allende *et al.*, 2006).

a. Calidad Sensorial

La calidad desde el punto de vista de los consumidores es siempre subjetiva. La apariencia en los vegetales de hoja es el criterio principalmente utilizado para medir la calidad a lo largo de la cadena de comercialización y es fundamental al momento de decidir la compra (Kays, 1999; Kader, 2002; Nunes *et al.*, 2009). Podríamos definir este enfoque de calidad mediante el término calidad percibida. Los parámetros de apariencia en lechuga manteca engloban varias características, tales como tamaño y forma de la cabeza, color y brillo, textura y turgencia de las hojas, y presencia de defectos tales como roturas, manchas; y pardeamiento, tanto en hojas y nervaduras como en la zona de corte.

En la lechuga, el tamaño, la forma y el grado de compactación de la cabeza se relacionan directamente con el cultivar seleccionado y con el estadio de madurez al momento de la cosecha, siendo este el principal parámetro utilizado por los productores para determinar el momento de cosecha (Kader, 1992; Barg *et al.*, 2009). La lechuga manteca es una variedad que forma una cabeza compacta; las hojas presentan un arreglo compacto ubicándose alrededor del punto de crecimiento,

formando anillos concéntricos (Wien, 1997). Una lechuga cosechada antes de que la cabeza se haya formado por completo es más susceptible al daño mecánico y tiene una velocidad de respiración más elevada, lo que reduce su aceptabilidad comercial y la vida útil (Kader, 1992).

La textura en los alimentos, detectada a través del sentido del tacto, agrupa un conjunto de características físicas relacionadas con la deformación, rugosidad y fragilidad del alimento y es un atributo importante que contribuye a determinar la aceptabilidad o no del vegetal por parte de los consumidores. En los vegetales, la textura es afectada por características propias del tejido, tales como constituyentes bioquímicos y estructurales de las células, contenido acuoso o turgencia del tejido y la composición de las paredes celulares (Sams, 1999). Los parámetros de textura para lechuga manteca incluyen la firmeza del tejido, tanto en las hojas como en el tejido de las nervaduras y la crujencia (*crispness*). Los cambios en la textura también son importantes para los productores ya que afectan directamente la calidad, la vida útil, la capacidad de transporte y la resistencia a las enfermedades (Chen *et al.*, 2009).

La textura de los vegetales está influenciada por factores genéticos, culturales, fisiológicos y ambientales. Es común que se produzcan cambios en la textura durante el crecimiento y el desarrollo del vegetal, principalmente relacionados con modificaciones en la composición bioquímica de los componentes celulares, tales como celulosa, lignina, pectinas y hemicelulosas de la pared celular. Varios factores ambientales durante la precosecha pueden ser asociados con los cambios en la textura, tales como ataque de insectos y patógenos, daños mecánicos previos o durante la cosecha (Sams, 1999), estrés hídrico. Sin embargo, existen otros factores ambientales que van a afectar la calidad del producto, no sólo al momento de la cosecha, sino también más adelante, en la cadena de comercialización.

En la lechuga, la pérdida de agua es la principal causa de deterioro ya que resulta, no sólo en pérdidas cuantitativas asociadas a la disminución del peso, sino también en la disminución de la calidad sensorial debido al marchitamiento y el deterioro de la textura y turgencia del tejido (Barg *et al.*, 2009). Existe una relación directa entre la textura y el estado hídrico de la planta, que afectará la apariencia y vida útil. La lechuga es un vegetal altamente perecedero cuya vida útil se encuentra limitada por la deshidratación (Agüero *et al.*, 2008).

Los vegetales pueden ser descritos como una solución acuosa de especies de bajo peso molecular (principalmente azúcares, sales y ácidos orgánicos) y de alto peso molecular (carbohidratos complejos, pectinas, hemicelulosas, proteínas y ligninas) contenidas en una matriz celular insoluble en agua. Ciertos espacios intercelulares se encuentran llenos de aire, especialmente en el tejido parenquimatoso y deben ser considerados como importantes elementos estructurales ya que tienen marcada influencia en la textura (Maltini *et al.*, 2003). Todos estos componentes interactúan entre sí y con el agua para producir los cambios físico - químicos durante el desarrollo, la maduración y la posterior senescencia.

El elevado contenido acuoso de la lechuga, cercano al 95 % P/P (Agüero *et al.*, 2008) indica la importancia que este parámetro tiene sobre la vida útil. Muchos estudios se han realizado sobre el estado del agua en plantas sometidas a diferentes regímenes hídricos extremos para estudiar sus mecanismos adaptativos (Jones; Tardieu, 1998; Diallo *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2007). Sin embargo, las estrategias adaptativas de las plantas sometidas a estrés hídrico leve pueden ser muy distintas y provocar diferentes consecuencias en la calidad de la lechuga. La gran superficie expuesta de la lechuga es responsable de la susceptibilidad de la misma a la pérdida de agua. Es importante que las hojas se mantengan bien hidratadas para mantener sus características sensoriales, como la textura y la apariencia, en los niveles que esperan los consumidores. Al momento de la cosecha, el estado hídrico de la planta es un factor determinante de la calidad posterior.

Debido a la complejidad de las relaciones planta/agua no existe una única manera de cuantificar el grado de estrés hídrico ambiental y varios índices son utilizados: contenido hídrico del suelo, humedad relativa ambiente, etc. (Fitter; Hay, 2002). Por convención se mide el estrés hídrico en función de la reducción de la turgencia de las hojas respecto del máximo valor. El principal índice utilizado es la medición del potencial hídrico del tejido. Sin embargo, el contenido relativo de agua (CRA) es utilizado con buenos resultados (Fitter; Hay, 2002; Agüero *et al.*, 2008).

Actualmente, es sabido que el contenido en agua libre (AL) es más importante para la calidad y la estabilidad de un alimento que el contenido total de agua (CA). La elección de AL como indicador potencial de la vida útil se basa en que el AL es el

factor determinante del crecimiento microbiano, pero no así el CA. Además, el contenido en AL se relaciona directamente con la mayoría de los procesos físicos y las reacciones químicas y enzimáticas de deterioro. La migración del agua dentro de los tejidos vegetales obedece a AL y no al CA (Maltini *et al.*, 2003). Agüero *et al.* (2008) encontraron que la relación AL/AT es un buen indicador del estado hídrico de la planta y su relación con la calidad sensorial y la vida útil.

El color es otro de los parámetros de calidad sensorial en lechuga determinante de la compra. Los consumidores relacionan directamente el color de la hoja con la calidad, y por lo tanto esperan que cumpla con ciertos requisitos específicos (Kays, 1999). El color es función de la longitud de onda de la luz que recibe, transmite y refleja el material. Cada material refleja la radiación incidente a una diferente longitud de onda; el color es la percepción visual de esas longitudes de onda, según la que cada uno absorbe y la que emite. Los colores que se perciben dependen de la cantidad y variedad de pigmentos presentes en el vegetal. Los pigmentos vegetales de mayor importancia son la clorofila, los carotenos, los flavonoides, las quinonas y otros compuestos fenólicos.

Los pigmentos naturales de las hojas, además de contribuir a la formación del color, cumplen funciones fisiológicas específicas. Por ejemplo, la clorofila cumple un rol fundamental en la fotosíntesis mediante la captación de los fotones, necesarios para la fijación del carbono. Los carotenos, también presentes en la mayoría de los vegetales, tienen su función principal asociada a la captación de la energía luminosa, que luego es transmitida a las clorofilas para llevar a cabo la fotosíntesis. Los carotenoides (α y β -caroteno) tienen también asociado un beneficio nutricional ya que son provitaminas A y presentan importantes propiedades antioxidantes (Nicolle *et al.*, 2004; Caldwell; Britz, 2006). En las plantas de lechuga, también existen otros pigmentos que son formados durante reacciones de deterioro, principalmente debido a la oxidación. Ejemplos de estos pigmentos son los compuestos fenólicos, formados en reacciones asociadas al daño mecánico o al daño oxidativo (Kays, 1999).

El pardeamiento enzimático es un defecto importante en lechuga, origina coloraciones no deseadas y contribuye a la pérdida de la calidad durante la postcosecha. En la lechuga, este tipo de reacción es característico de las hojas y de la zona de corte. Cuando la reacción de pardeamiento ocurre, los compuestos fenólicos

presentes en el tejido vegetal son oxidados produciendo quinonas que se polimerizan formando pigmentos de color marrón (Franck *et al.*, 2007). La reacción del pardeamiento enzimático utiliza O₂ como co-sustrato y está catalizada por la enzima polifenol oxidasa (PPO según sus siglas en inglés). Los factores más importantes asociados al pardeamiento enzimático son: i) la concentración de los compuestos fenólicos (sustratos), ii) la actividad de la PPO y del enzima fenilalanilamonio liasa (PAL según sus siglas en inglés), iii) la presencia de sustancias antioxidantes (como el ácido L-ascórbico).

Las heridas que se producen en los tejidos, por daños mecánicos, ataques de patógenos o reacciones fisiológicas, producen una descompartmentalización celular que pone en contacto los compuestos fenólicos (ubicados en las vacuolas) con la enzima (normalmente ubicada en el citosol), dando como resultado el pardeamiento del tejido. La actividad de la enzima se incrementa con el aumento de la temperatura y en situaciones de estrés hídrico (Kader, 2002). La actividad de la enzima PPO no es limitante del pardeamiento enzimático, debido a que se encuentra compartimentalizada hasta que, por alguna razón, se rompe la integridad de las membranas que la separan del sustrato. Las causas del pardeamiento enzimático se asocian con todas aquellas que afecten la integridad de las membranas (Franck *et al.*, 2007).

b. Calidad nutricional

En la comercialización de alimentos, es conocido el rol de la apariencia en la calidad. Sin embargo, en los últimos tiempos se ha incrementado la importancia relativa del aporte nutricional al determinar la calidad de un alimento. Rodrigues *et al.* (2010) introducen el concepto de seguridad nutricional, haciendo referencia a que el alimento suministre al consumidor la cantidad y calidad adecuada de los nutrientes que se espera obtener. Los vegetales frescos juegan un papel importante en la nutrición humana, especialmente como fuente de fibra dietaria y de componentes bioactivos como vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes.

Uno de los factores determinantes de la calidad nutricional de los alimentos es el contenido de vitaminas. Dado que el cuerpo humano no puede sintetizar cantidades suficientes de vitaminas para satisfacer los requerimientos metabólicos, deben ser

suministrados por la dieta (Rodrigues *et al.*, 2010). Los vegetales de hojas son ricos en compuestos fitoquímicos con propiedades antioxidantes y asociados a sustancias promotoras de la salud. Es ampliamente aceptado por varios estudios epidemiológicos que los compuestos fitoquímicos pueden prevenir varias enfermedades (Oh *et al.*, 2009).

Estudios recientes han determinado la importancia en la dieta humana de los compuestos fitoquímicos, principalmente por sus propiedades antioxidantes. Estos estudios han incrementado el interés por los vegetales que son ricos en compuestos antioxidantes, entre ellos la lechuga (Di Benedetto, 2005; Allende *et al.*, 2006, Oh *et al.*, 2009). Poco es lo que se sabe acerca de las cantidades absolutas de antioxidantes requeridos en la dieta, pero el incremento de los niveles de los mismos durante la precosecha de vegetales es un área de interés para la investigación de tecnologías de producción, para otorgarle al producto mayor valor nutricional (Di Benedetto, 2005).

En la lechuga, la actividad antioxidante se debe a la presencia del ácido ascórbico (AA) y su forma oxidada, al ácido dehidroascórbico (AhA), los que presentan actividad de vitamina C. Si bien el AA se encuentra en muchos vegetales, su contenido es ampliamente variable, aún entre variedades de la misma especie o en diferentes tejidos de la misma planta (Lee; Kader, 2000). Las plantas de lechuga tienen contenidos bajos de vitamina C, respecto de otros vegetales, sin embargo debido al elevado consumo *per cápita* de la lechuga su importancia nutricional se incrementa.

El genotipo, el sistema de cultivo utilizado y las condiciones ambientales durante el desarrollo de la planta pueden tener un gran impacto en el metabolismo de la planta, pudiendo influenciar la composición bioquímica de la hoja al momento de la cosecha. Conte *et al.* (2008) informaron trabajando con espinaca (*Spinacia oleracean L.*) que la temperatura y la radiación recibida tuvieron un fuerte efecto en el contenido de antioxidantes.

Un gran rango de factores influye en el contenido de AA, tanto en la precosecha como en la postcosecha. El contenido en vitamina C es, en general, más alto en plantas que recibieron durante su desarrollo mayor cantidad de luz debido a que se sintetiza a partir de azúcares (Lee; Kader, 2000, Conte *et al.*, 2008). Si bien la vía metabólica por la cual se sintetiza el AA en las plantas no está completamente

dilucidada, existiendo aún varios puntos por aclarar, es aceptado que se sintetiza a partir de una serie de hexosas precursoras que derivan principalmente de la D - glucosa (Toledo *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2010).

Además de la importancia nutricional ya mencionada, el AA tiene relación con la calidad sensorial de la lechuga debido a sus propiedades antioxidantes. El AA juega un rol importante en la fotosíntesis y desempeña importantes funciones bioquímicas y fisiológicas como antioxidante, cofactor enzimático, dador y aceptor de electrones en la cadena de transporte de electrones, precursor biológico del oxalato y del tartrato (Toledo *et al.*, 2003, Li *et al.*, 2010). También actúa como agente de defensa contra el estrés oxidativo y tiene la capacidad de retransformar las o - quinonas en difenoles, disminuyendo el pardeamiento enzimático (Frankc *et al.*, 2007). En general, se considera que el AA protege los tejidos contra la oxidación de los lípidos por acción de las especies reactivas de oxígeno (EROs) generadas durante la fotosíntesis y la respiración, y que el pardeamiento enzimático no ocurre a menos que el contenido en AA caiga por debajo de un valor mínimo (Frankc *et al.*, 2007).

El estado hídrico del tejido vegetal juega un papel importante en la capacidad antioxidante. El agua puede tener un efecto antioxidante o pro - oxidante, según se encuentre en altas o bajas proporciones. El agua puede actuar como un antioxidante cuando la actividad de agua es baja por la hidratación de iones metálicos, la formación de puentes de hidrógeno con hidroperóxidos y la promoción de la recombinación de los radicales libres. Por otra parte, puede actuar como pro - oxidante cuando la actividad de agua es elevada debido al efecto plastificante que promueve la movilidad de los reactivos, actúa como disolvente de catalizadores que en otras condiciones se encuentran precipitados y por el hinchamiento de las estructuras celulares exponiendo así nuevas superficies catalíticas (Maltini *et al.*, 2003). Este último efecto es el comúnmente observado en la lechuga por su elevada a_w , lo que lleva a que se produzcan normalmente reacciones indeseables de pérdida de color y de valor nutritivo por la oxidación de pigmentos y vitaminas susceptibles.

c. Calidad sanitaria

Con el aumento en la demanda por parte de los consumidores de productos vegetales frescos y mínimamente procesados que se venden listos para consumir,

también se incrementa la preocupación por la calidad sanitaria de la lechuga (Wießner *et al.*, 2009). El entendimiento de la dinámica de las poblaciones microbianas en los vegetales de hoja que son consumidos frescos, como es el caso de la lechuga, es importante para que los productos que lleguen al consumidor sean seguros.

Los vegetales frescos nunca se encuentran libres de microorganismos deteriorantes y, en algunos casos pueden contener microorganismos patógenos (McKellar *et al.*, 2004). Además debe tenerse en cuenta que las operaciones de lavado y sanitización postcosecha que se realizan no eliminan por completo la carga microbiana, lo que resalta la importancia de obtener plantas de lechuga con bajas cargas microbianas y ausencia de patógenos al momento de la cosecha (Fonseca, 2006; Kim *et al.*, 2006). Varios brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) han sido asociados al consumo de lechuga en los últimos años (Beuchat, 2002; Kim *et al.*, 2006, Fonseca, 2006).

Los recuentos iniciales de bacterias mesófilas en vegetales de hoja son altos y altamente variables, típicamente varían entre 10^3 y 10^9 UFC/g TF (Zagory, 1999). Abadias *et al.* (2008) realizaron un relevamiento en el mercado de la carga microbiana presente en productos vegetales, entre ellos de plantas enteras de lechuga de diferentes variedades, encontrando recuentos que varían entre 2.7 y 8 log (UFC/g TF). Estos resultados demuestran la variabilidad de los recuentos y el peligro potencial ya que, en el mismo estudio afirman que, aún en los casos en los que los recuentos fueron altos, el producto no presentaba signos de deterioro y se encontraban dentro de la fecha de consumo recomendada. El conocimiento de la microflora nativa de los vegetales es esencial para predecir y controlar el crecimiento de microorganismos patógenos durante el posterior almacenamiento postcosecha.

Se sabe que diferentes condiciones precosecha pueden resultar en diferencias en los recuentos microbianos, sin embargo la mayoría de los estudios realizados hacen referencia al efecto durante la postcosecha del cultivo convencional y el cultivo orgánico (Ponce *et al.*, 2003; Daiss *et al.*, 2008). Wießner *et al.* (2009) realizaron un estudio comparando los recuentos microbianos en lechuga utilizando diferentes tipos de abonos orgánicos, e informaron recuentos entre 6 y 7.5 log (UFC/g TF). Estudios previos realizados sobre las poblaciones microbianas de plantas cultivadas en

invernaderos tradicionales y con *mulch* muestran claras diferencias en los recuentos microbiológicos al momento de la cosecha (Ponce *et al.*, 2008).

B- MATERIALES Y MÉTODOS

1. Cosecha y preparación de las unidades experimentales

El ensayo se llevó a cabo con plantas de lechuga manteca (*Lactuca sativa* cv. *Lores*), producidas comercialmente en Sierra de los Padres, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina (Latitud Sur 37° 57' Longitud Oeste 57°42'). Se utilizaron lechugas producidas bajo tres diferentes métodos de cultivo: campo, invernadero tradicional (I.trad) e invernadero con *mulching* (I.mulch). Las tres quintas proveedoras fueron seleccionadas porque trabajaban con la misma variedad de lechuga y producían volúmenes que garantizaban la posibilidad de contar con suficiente materia prima para realizar el estudio con las repeticiones necesarias. La cercanía de las quintas entre sí garantizó similares condiciones lumínicas, temperaturas medias y régimen de lluvias. Los productores de las quintas utilizaron similares planes de riego y fertilización.

Los invernaderos utilizados para el cultivo de las plantas I.trad e I.mulch presentan características similares. Ambos son de estructura de madera a dos aguas, de dimensiones similares (100 -120 m x 25 - 45 m x 3 - 3.5 m para el largo, ancho y alto, respectivamente). La orientación de la cubierta es, en ambas quintas, norte - sur y la orientación de las líneas de cultivo, este – oeste. El material de cobertura, fue en ambos casos polietileno de 150 µm de espesor (CRISTAL AGROMAN, Beniplast, Agroman). En el caso del invernadero *mulch* el material utilizado fue polietileno de baja densidad (PEBD) de color negro, con un espesor de 100 µm (MULCHING AGROMAN, Beniplast, Argentina).

Todas las plantas de lechugas utilizadas, independientemente del método de cultivo empleado, fueron iniciadas en plantineras, en bandejas plásticas multicelda (288 celdas) empleando como sustrato una mezcla de lombricompost (66 %) y perlita (33 %). El trasplante al invernadero se realizó cuando las plantas tenían entre 3 - 5 hojas verdaderas (entre 30 - 45 días posteriores a la siembra) y a campo entre 3 - 5 hojas en primavera y 2 - 4 hojas en verano. Las plantas utilizadas para los ensayos se cosecharon entre los meses de octubre de 2007 y marzo de 2008 y entre los meses de septiembre de 2008 y marzo de 2009, con ciclos de entre 40 y 70 días post - trasplante, siendo más largo el ciclo de las plantas provenientes de invernadero.

El régimen térmico de las dos temporadas fue similar, la temperatura media en la primavera - verano de 2007/2008 fue 17.9 °C y la de la temporada 2008/2009 fue de 18.8 °C (Boletín Agrometeorológico Mensual, Servicio Meteorológico Nacional, <http://www.smn.gov.ar/?mod=agro&id=11>). Se utilizaron plantas en estado óptimo de madurez, considerando que alcancen un tamaño comercializable (entre 24 y 30 hojas desarrolladas) y que la cabeza se haya cerrado completamente (Kader, 1992).

Teniendo en cuenta los mencionados parámetros, las plantas fueron seleccionadas al azar en cada lote. La cosecha fue manual, realizada por los operarios de cada una de las quintas, con el cuchillo que utilizan regularmente para dicha tarea, siempre cerca de las 8 de la mañana, cortando la planta por la base, lo más cercano al suelo posible. El operario realizó en el lugar un emprolijado manual de las hojas más cercanas al suelo según es la práctica habitual, eliminando sólo 2 o 3 hojas por planta cuando las mismas se encontraban deterioradas. Ninguna otra operación de limpieza o selección de las plantas se realizó al momento de la recolección. Las plantas fueron colocadas en bolsas de polietileno negras de 60 x 90 cm y transportadas refrigeradas hasta el laboratorio en aproximadamente una hora y mantenidas refrigeradas hasta su procesamiento.

Una vez en el laboratorio, las plantas fueron separadas al azar y algunas de ellas asignadas para determinar los índices de calidad al momento de la cosecha. El resto de las plantas fueron envasadas para la determinación de la evolución de los índices de calidad durante el almacenamiento refrigerado en atmósfera modificada (resultados a ser presentados en el capítulo 2).

2. Diseño por anillos o zonas

Las determinaciones de calidad al momento de la cosecha se realizaron siguiendo un diseño radial de anillos. Las plantas de lechuga destinadas a estas determinaciones fueron deshojadas comenzando desde la zona externa hacia la interna, identificando cada hoja con un número que indicó a que anillo pertenecía, numerándolos desde el más externo (anillo 1) hasta el interno (anillo 8). Cada anillo estaba compuesto por 2, 3 ó 4 hojas según se determinó visualmente invirtiendo la planta de lechuga y determinando la posición de la hoja respecto del tallo (Figura 1).

A la vez, se realizó una clasificación según la posición de las hojas en la planta como hojas externas, medias e internas, siguiendo la clasificación presentada por varios autores (Siomos *et al.*, 2002; Agüero *et al.*, 2008; Barg *et al.*, 2009). Esta clasificación fue realizada en función a las características morfológicas en cada zona.

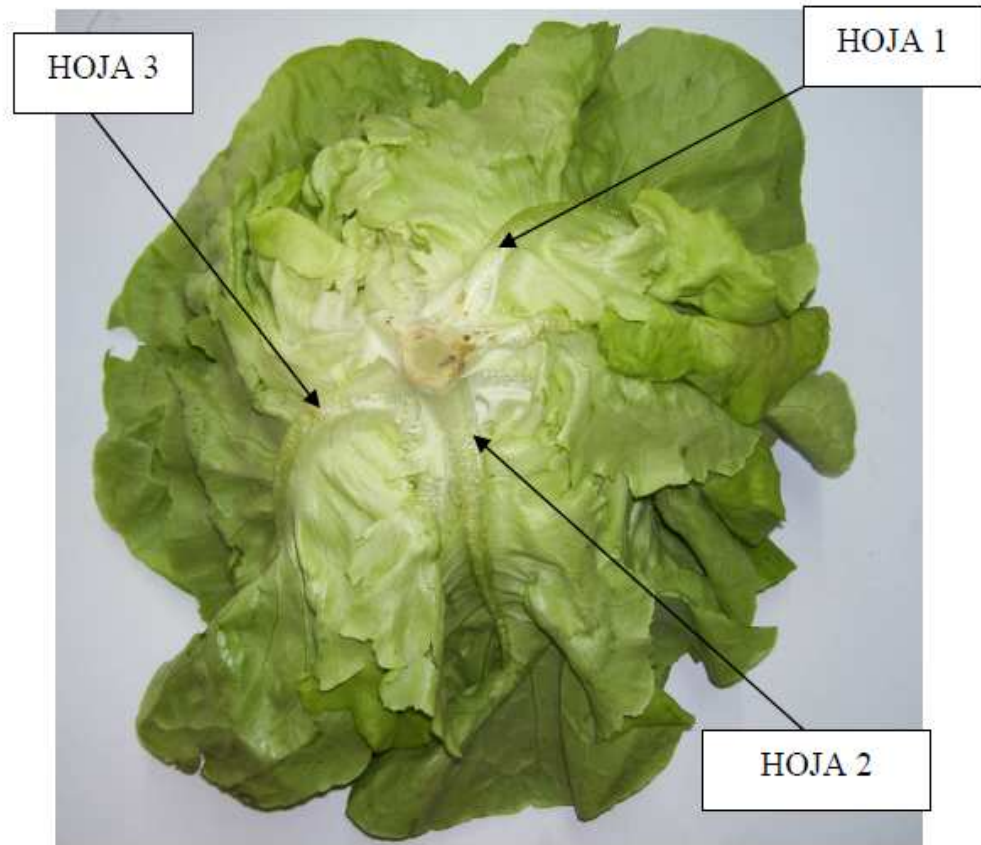


Figura 1: Lechuga manteca, indicando las hojas que componen el anillo 1.

3. Determinaciones de calidad al momento de la cosecha

a. Peso de la planta

Las plantas fueron pesadas en una balanza digital (DENVER INSTRUMENT, Colorado, USA). El peso total (PT) de las plantas fue registrado con precisión de 0.1 g. Todas las plantas utilizadas a lo largo del presente trabajo fueron pesadas y se utilizaron para el cálculo del peso medio de las plantas, según el método de cultivo utilizado durante la producción primaria.

b. Área de las hojas

El área (A) de las hojas se expresó en cm^2 . Se obtuvo marcando cada hoja sobre un papel con relación masa/ cm^2 conocida y pesando la hoja recortada. El área de cada anillo se calculó promediando el área de las hojas individuales que lo componen.

c. Número de hojas y peso por zona

Se contó el número de hojas en cada zona de la planta (NHZ) y cada fracción obtenida se pesó para determinar peso de cada zona (PZ). Se obtuvo el peso de la zona externa (PZ_E), el peso de la zona media (PZ_M) y el peso de la zona interna (PZ_I) con precisión de 0,1g.

d. Estado del Agua

Para determinar el estado del agua dentro de las plantas se determinaron los siguientes índices:

- Contenido de agua (CA): expresado como g de agua por cada 100 g de tejido fresco (TF).
- Contenido relativo de agua (CRA): permite estimar la capacidad de retención de agua del tejido (Fitter; Hay, 2001; Lawlor, 2002; Agüero *et al.*, 2008). Este índice mide el contenido de agua del tejido fresco y lo relaciona con el contenido de agua que tiene el mismo tejido cuando se encuentra completamente hidratado (turgente). Al ser una relación entre dos cantidades con las mismas unidades (g de agua) es adimensional, se expresa como porcentaje.
- Agua libre (AL): representa la fracción de agua que se encuentra disponible para ser utilizada por los microorganismos y/o para participar en las reacciones metabólicas (Maltini *et al.*, 2003). Se expresa como g de agua libre sobre g de tejido seco ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

- Agua unida (AU): representa la fracción de agua que no puede ser utilizada por los microorganismos y/o las reacciones metabólicas y no puede ser congelada. Se expresa como g de agua unida sobre g de tejido seco ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).
- Relación agua libre / agua total (AL/AT): se obtiene mediante la relación entre el contenido en AL y el contenido de agua total (AT). El AT también se expresa como g agua sobre g de tejido seco, por lo que AL/AT resulta adimensional.

En cada una de las hojas componentes de cada anillo se determinaron cada uno de los índices del estado de agua. El promedio obtenido se informó como el valor para cada anillo particular. Para la determinación de los índices se siguió la metodología descrita por Agüero *et al.* (2008). Al menos 3 rectángulos de 15 cm^2 se cortaron de cada una de las hojas utilizando un cortador de acero inoxidable (Figura 2). El rectángulo de la parte central apical se destinó para la determinación del CRA, el rectángulo izquierdo para la determinación de CA y el derecho para determinar AL, AU y AL/AT. En las hojas externas y algunas medias, cuando el tamaño de la hoja lo permitió, se cortaron más rectángulos para las últimas dos determinaciones.

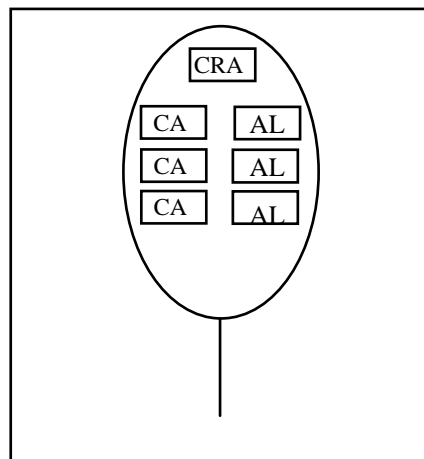


Figura 2: Disposición en la hoja de lechuga de los rectángulos cortados para las determinaciones del estado del agua.

El primer rectángulo, luego de ser cortado y numerado se pesa, obteniendo el peso fresco (PF) y se coloca en un recipiente con agua destilada a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ cubierto con un film plástico para generar un ambiente de humedad relativa saturada. Luego de 20 horas se pesa cada rectángulo, obteniéndose el peso turgente (PT). Posteriormente se coloca cada rectángulo pesado en una estufa de secado a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante

(aproximadamente 24 horas). Al pesarlo se obtiene el valor correspondiente al peso seco (PS). El CRA se obtiene a partir de la siguiente expresión (EC 1):

$$(Ec. 1) \quad CRA(\%) = \frac{PF - PS}{PT - PS} \cdot 100$$

Para la determinación del CA, el rectángulo de la porción izquierda de la hoja se pesa para obtener el peso fresco (PF), se numera y se lleva a estufa de secado a 80 °C hasta peso constante (24 horas). Posteriormente se pesa el rectángulo obteniéndose el peso seco (PS). El CA se calcula mediante la EC 2:

$$(Ec. 2) \quad CA(\%) = \frac{PF - PS}{PF} \cdot 100$$

El contenido de agua total (AT) corresponde a la suma del agua libre (AL) y el agua unida (AU). Para determinar estos índices se siguió la metodología propuesta por Singh *et al.* (2006) y puesta a punto por Agüero *et al.* (2008). El contenido total de agua se obtiene de la porción derecha de la hoja. El rectángulo numerado se pesa (PF) y a continuación se colocaron en tubos FALCON de 15 mL y se congelaron con nitrógeno líquido. A continuación los rectángulos fueron descongelados y secados en contacto con el aire durante 30 minutos y pesados para obtener el peso seco de aire (PSA). Los rectángulos fueron luego llevados a la estufa de secado a 80 °C y secados hasta peso constante (24 horas) obteniéndose el peso seco (PS). Las expresiones que permiten calcular estos índices son las siguientes:

$$(Ec. 3) \quad AT = \frac{PF - PS}{PS}$$

$$(Ec. 4) \quad AU = \frac{PSA - PS}{PS}$$

$$(Ec. 5) \quad AL = AT - AU$$

La relación AL/AT se obtuvo de combinar las ecuaciones 3 y 5.

e. Color

El color se determinó midiendo los parámetros L^* , a^* y b^* en al menos tres sitios de cada una de las hojas que componen cada anillo con un colorímetro triestímulo SP60 (LOVIBOND, Solstice Park, Inglaterra) con un diámetro del área de medición de 8 mm., utilizando la escala CIELab (CIE, 1978). El equipo fue calibrado con una placa blanca ($Y = 93.2$, $x = 0.3133$, $y = 0.3192$).

El color fue expresado mediante el índice de color (IC) propuesto por Vignoni *et al.* (2006) a partir de los parámetros L^* , a^* y b^* según la ecuación 6:

$$(Ec. 6) \quad IC = \frac{a \cdot 1000}{L \cdot b}$$

- Si IC se encuentra entre -40 y -20 representa la variación del color desde el azul-violeta al verde profundo.
- Si IC se encuentra entre -20 y -2, representa la variación entre el verde profundo y el verde amarillento.
- Si IC se encuentra entre -2 y +2, representa el amarillo verdoso.
- Si IC se encuentra entre +2 y +20, representa la variación entre el amarillo pálido al naranja intenso.
- Si IC se encuentra entre +20 y +40, representa la variación entre el naranja intenso y el rojo profundo.

f. Contenido de ácido ascórbico reducido

Para la determinación del contenido de ácido ascórbico (AA) se utilizó la metodología descrita por Roura *et al.* (2003). Para ello se utilizó un *pool* de las hojas componentes de cada anillo de 20 ± 1 g y se homogeneizó en 100 mL de una solución de ácido metafosfórico al 6 % durante 3 minutos usando un homogeneizador de tejidos (Minipimer, BROWN 400 W, Argentina). El homogenato se completó hasta un volumen final de 250 mL con ácido metafosfórico al 3 % y se filtró al vacío a través de un papel de filtro Whatman #42. Dos alícuotas de 10 mL del sobrenadante fueron tituladas con una solución de colorante 1,6-dicloroindofenol. La solución de 1,6-dicloroindofenol se valoró con una solución patrón de ácido L-ascórbico de título exactamente conocido.

El contenido de AA se expresó en mg de ácido ascórbico por cada 100 g de tejido fresco (mg AA/ 100 g TF).

g. Recuentos microbiológicos

Se determinó la carga microbiana inicial de las plantas utilizando la técnica descrita por Moreira *et al.* (2003). Se tomaron 10 ± 1 g de un *pool* de hojas de cada anillo y se homogeneizó (Stomacher 400, London, UK) con una solución buffer (PO_4K_3 , pH = 7.2). Los recuentos totales se llevaron a cabo en *Plate Count Agar* (PCA) sembrando en superficie e incubando a 35 °C por 24 horas (ICMSF, 1983; Mossel; Moreno García, 1985). El recuento total de bacterias mesófilas se expresó como el logaritmo de las unidades formadoras de colonias por gramo de tejido fresco (Log UFC/ g TF).

h. Análisis sensorial

La metodología utilizada es la descrita por Pirovani *et al.* (1997) con modificaciones. Cada planta fue examinada por 9 jueces entrenados con experiencia previa en la evaluación de la calidad sensorial de vegetales de hoja. Los análisis fueron realizados aproximadamente 2 horas después de haber sido cosechadas las plantas. Las muestras fueron presentadas a los jueces de a una, sólo identificadas con un código de 3 dígitos para ser evaluadas y los mismos realizaron las evaluaciones de manera independiente. Se utilizaron 3 plantas provenientes de cada uno de los métodos de cultivo en cada una de las repeticiones.

Para la evaluación sensorial se optó por sectorizar la planta en tres zonas: externa, media e interna, informando sólo estos valores. Si se hubiera continuado con el diseño de anillos utilizado para la caracterización fisicoquímica y microbiológica durante la evaluación sensorial, se hubiera incrementado considerablemente el número de muestras que debería haber analizado cada juez, haciendo muy difícil la tarea y sometidos a una saturación que podría inducir errores. Los jueces evaluaron al menos 3 hojas de cada zona de cada planta para asignar el valor correspondiente.

La apariencia de las plantas fue evaluada mediante tres descriptores: (a) pardeamiento enzimático en las hojas, (b) textura de las hojas al tacto y (c) color y brillo de las hojas. Un cuarto descriptor fue utilizado en la planta entera para evaluar el pardeamiento en la zona de corte.

- Pardeamiento enzimático: Se utilizó una escala numérica creciente, de 1 a 5 donde 1 representó la ausencia de pardeamiento y 5 el pardeamiento excesivo. El límite de aceptación se definió para el valor 3. La misma escala se utilizó tanto para evaluar la presencia de pardeamiento en las hojas como en la zona de corte.
- Textura de las hojas: En este caso, la escala numérica utilizada fue decreciente, de 5 a 1 donde 5 fue correspondiente a la textura al tacto óptima y 1 la textura inaceptable. Igual que para el descriptor del pardeamiento enzimático, el valor 3 correspondió al límite de aceptación. Para la evaluación de este descriptor, los jueces tomaron la hoja entre las yemas de los dedos, percibiendo la textura con el tacto.
- Color y brillo de las hojas: la escala numérica fue decreciente de 5 a 1, donde el puntaje igual a 5 fue correspondiente al óptimo y 1 correspondiente al color y brillo completamente inaceptable. Al igual que para la textura de las hojas, el valor 3 correspondió al límite de aceptación.

4. Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó mediante el procedimiento PROC GLM (*General Lineal Model*) y los supuestos de normalidad fueron verificados con el PROC UNIVARIATE del programa SAS versión 9.0 (SAS Inc. 2002). Los factores utilizados como fuente de variación fueron el método de cultivo (campo, invernadero tradicional e invernadero con *mulch*) y, según corresponda para cada tipo de diseño: anillos (del 1 al 8) ó zonas (externa, media e interna). En todos los casos fue evaluada la interacción entre los factores. Los valores informados en este trabajo corresponden a los estimadores de la media por el método de los mínimos cuadrados junto a su error estándar (Steel; Torrie, 1992; Khuel, 2001).

Cuando se encontraron diferencias significativas mediante el análisis de la varianza se usó el *test* de Tukey-Kramer para las comparaciones múltiples entre las medias, considerando significativas las diferencias cuando $p < 0.05$ (Kuehl, 2001).

C- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Peso de las plantas

Si bien todas las plantas utilizadas en el estudio fueron cosechadas en estado óptimo de madurez, el peso al momento de la cosecha fue significativamente diferente ($p = 0.0132$) para cada método de cultivo. Las plantas utilizadas en los ensayos presentaron, al momento de la cosecha un peso de 352.0 ± 59.1 g, 388.7 ± 70.8 g y 373.8 ± 96.7 g para campo, l.mulch e l.trad, respectivamente. Las plantas provenientes de campo fueron significativamente menores que las de invernadero ($p = 0.0078$), presentando estas últimas un valor promedio de 378.7 g.

2. Área de las hojas

La Figura 3 muestra los valores promedio de las áreas obtenidos para cada anillo de las plantas en función del método de cultivo utilizado. La interacción entre el factor método de cultivo y el factor anillo no fue significativa ($p = 0.1002$) por lo que se analizaron los efectos principales, siendo ambos significativos ($p < 0.0001$).

Al comparar el efecto principal método de cultivo se observó que el área de las hojas de las plantas provenientes de campo fue significativamente menor ($p < 0.0001$) que las provenientes de invernadero. Entre l.mulch e l.trad no se observaron diferencias significativas ($p = 0.2688$) para el área de las hojas. Los valores medios del área obtenidos para campo, l.mulch e l.trad fueron 188.7, 255.8 y 233.5, en cm^2 respectivamente. El área de las hojas de las plantas de campo fue 23 % menor que las de invernadero (l.mulch e l.trad en conjunto).

Al analizar el efecto principal anillo se observó una tendencia general de reducción del área de las hojas en sentido de los anillos internos (Tabla 1). Las diferencias no fueron significativas hasta el anillo 5 ($p < 0.0001$), obteniéndose un valor medio de $281.4 \text{ cm}^2 \pm 23.1 \text{ cm}^2$. No hubo diferencias significativas entre el anillo 6 y el 7, obteniéndose un valor medio de $155.5 \text{ cm}^2 \pm 24.3 \text{ cm}^2$. El área de las hojas de los anillos externos fue 1.8 veces mayor que el área de las hojas en los anillos 6 y 7. El

anillo 8 fue significativamente menor que el resto, con una reducción del área del 67 % respecto de la zona externa y 42 % respecto de la zona media.

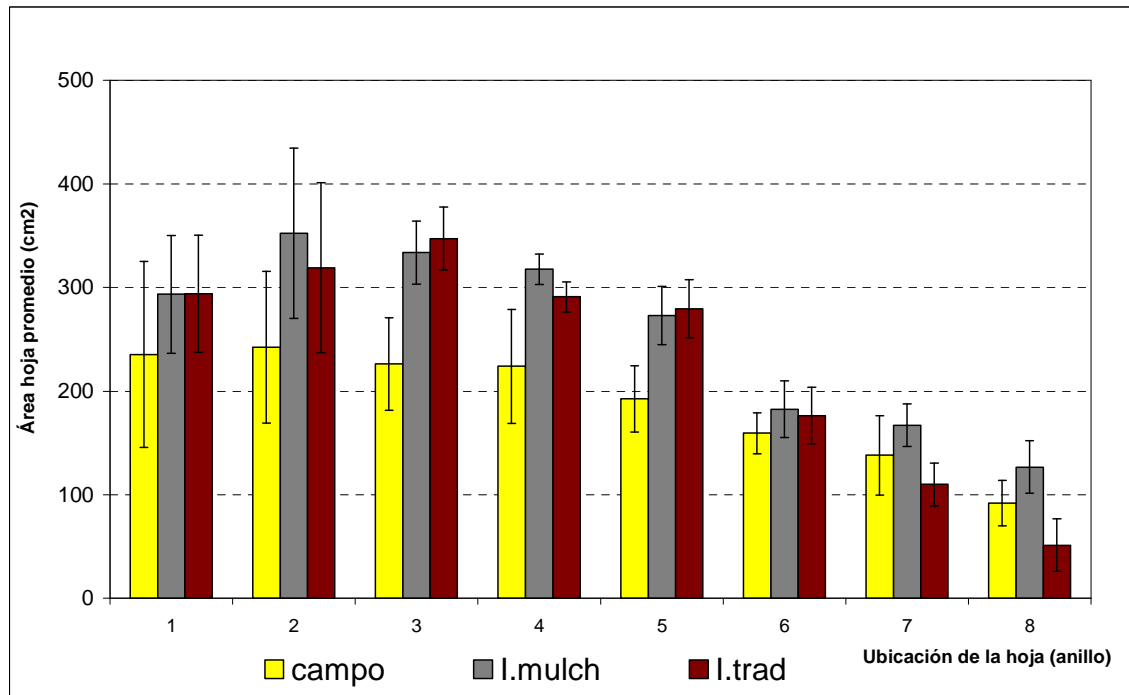


Figura 3: Área de las hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos), en cm^2 . Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas; Anillo 8: hojas internas.

Tabla 1: Comparación de las medias del área de las hojas de lechuga manteca según el efecto principal anillo, en cm^2 . Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas externas.

| Anillo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| Área (cm^2) | 274.2 ^a | 304.6 ^a | 302.3 ^a | 277.5 ^a | 248.4 ^a | 172.8 ^b | 138.3 ^b | 90.5 ^c |

3. Número de hojas y peso por zona

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.0001$) en el número de hojas totales de las plantas en relación al método de cultivo, obteniéndose 33 hojas para las plantas de campo, 22 para l.mulch y 20 para l.trad.

Asimismo, cada zona presentó diferente número de hojas según el método de cultivo, con una interacción significativa entre los factores ($p < 0.0001$). Las plantas cultivadas en campo presentaron mayor número de hojas externas e internas que las cultivadas en invernadero. Los valores correspondientes para cada zona pueden verse en la Tabla 2.

Tabla 2: Comparación de las medias del número de hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columnas y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 13.3 ^{Aa} | 5.5 ^{Ab} | 4.9 ^{Ab} |
| Media | 10.5 ^{Ba} | 11.0 ^{Ba} | 7.3 ^{Bb} |
| Interna | 10.0 ^{Ba} | 5.7 ^{Ab} | 8.1 ^{Bc} |

Para la zona externa, las diferencias fueron significativas para los tres métodos de cultivo, siendo las plantas provenientes de campo las que presentaron mayor número de hojas (13), seguida por las plantas de invernadero, con 5 hojas cada una. El análisis del número de hojas en la zona media no mostró diferencias significativas ($p = 0.4916$) entre la lechuga de campo e I.mulch, con una media entre ambas zonas de 10 hojas. La lechuga de I.trad presentó el menor número de hojas ($p < 0.0001$), con solo 7 hojas. La zona interna presentó diferencias significativas en el número de hojas para los tres métodos de cultivo estudiados. Las lechugas provenientes de I.mulch fueron las que presentaron el menor número de hojas (6), seguidas por las plantas de I.trad (8) y luego campo (10).

En la Figura 4 se muestran los perfiles obtenidos del número de hojas para cada zona dentro de la planta, siendo los mismos diferentes para cada método de cultivo. Mientras que para la lechuga de campo se encontró una evolución decreciente en el número de hojas, para la lechuga I.trad se observó un perfil ascendente. El perfil obtenido para las plantas I.mulch mostró un patrón diferente, donde el máximo en el número de hojas tuvo lugar en la zona media.

El peso de las zonas de las plantas se comportó de manera similar al número de hojas, con una interacción significativa entre método de cultivo y zona ($p < 0.0001$). La Tabla 3 muestra las proporciones medias obtenidas (en g.g^{-1}) para cada zona y cada método de cultivo. La zona externa de las plantas de campo fue significativamente más pesada, respecto del peso total de la planta, que la zona externa de las plantas de invernadero ($p < 0.0001$). No se observaron diferencias significativas entre las plantas provenientes de invernadero, con una relación promedio de 0.25. Sin embargo en la zona media, las plantas provenientes de l.mulch fueron las que presentaron la mayor relación de peso (0.55), respecto de l.trad (0.46) y campo (0.38). En la zona interna, las diferencias fueron significativas entre las plantas de campo (0.18) y las de l.trad (0.26), mientras que las plantas l.mulch presentaron un valor intermedio (0.23). Dentro de las plantas de campo, la zona externa y la media representaron una relación mayor del peso de la planta que la zona interna. No ocurrió lo mismo para las plantas de invernadero, donde la mayor relación de peso se debió a la zona media.

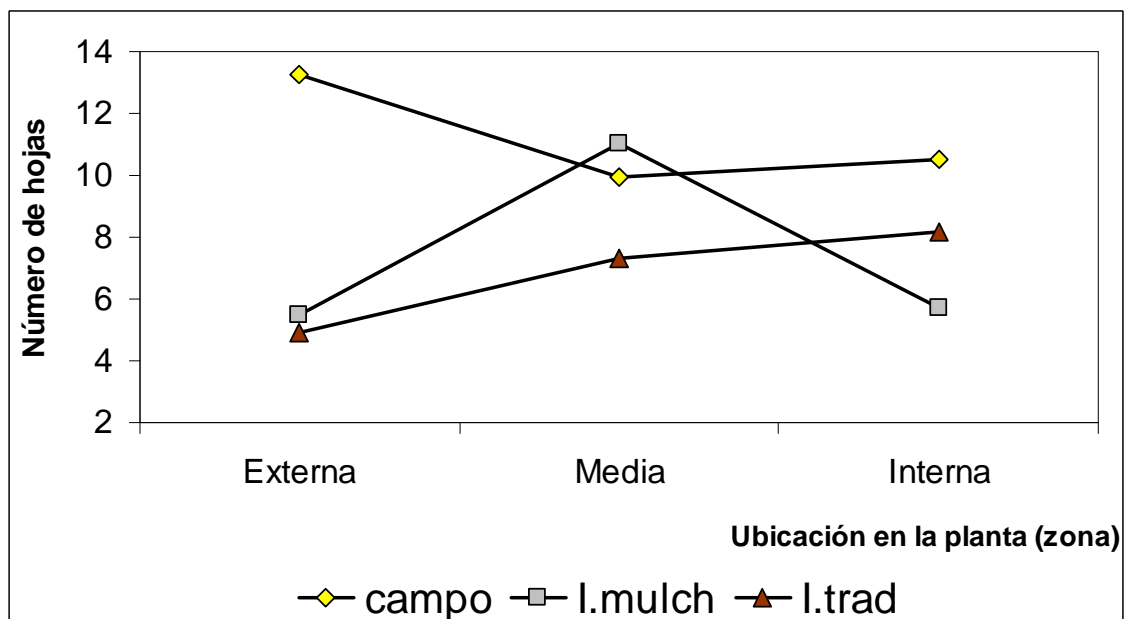


Figura 4: Cantidad de hojas en plantas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la zona. Los valores presentados corresponden los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados.

La productividad de la lechuga (biomasa, número de hojas y área de las hojas) se ve afectada por la temperatura del aire, la intensidad de la radiación incidente, la velocidad del viento y la disponibilidad del agua (Chikushi; Eguchi, 1989; Moretti *et al.*,

2010). El uso o no de invernaderos, la cobertura o no del suelo y la posición de la hoja dentro de la planta, producen modificaciones en dichas condiciones que afectarían el normal desarrollo de la planta. Del análisis de los resultados presentados surge que las plantas provenientes de campo están menos desarrolladas que las cultivadas en invernadero; dado que, si bien las plantas de campo tienen mayor número de hojas que las de invernadero, presentaron menor peso total y menor área de las hojas.

Tabla 3: Comparaciones de las medias de la relación peso zona/ peso planta (en g.g⁻¹) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columnas y minúscula por fila.

| Método de Cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 0.44 ^{Aa} | 0.22 ^{Ab} | 0.28 ^{Ab} |
| Media | 0.38 ^{Aa} | 0.55 ^{Bb} | 0.46 ^{Bab} |
| Interna | 0.18 ^{Ba} | 0.23 ^{Aab} | 0.26 ^{Ab} |

Tanto el crecimiento como el desarrollo de la lechuga son afectados por las condiciones climáticas a las que había sido expuesta la planta, previo al momento de cosecha. En general, la temperatura del ambiente afecta la relación que existe entre la fotosíntesis y la respiración. Para obtener rendimientos altos, la fotosíntesis debe producirse a una tasa elevada, manteniendo una relación fotosíntesis / respiración superior a 1 (Moretti *et al.*, 2010). Las temperaturas superiores a las consideradas como normales afectan la actividad enzimática del proceso respiratorio y la cadena de transporte de electrones. Adicionalmente, también se ve afectada de manera indirecta la fotosíntesis, debido al aumento de la temperatura de las hojas, por el incremento de la evapotranspiración y la conductividad enzimática.

La mayor exposición de las plantas cultivadas en campo a la radiación solar, los cambios en la temperatura y humedad relativa del ambiente y demás condiciones, podrían afectar el desarrollo de las hojas y esto podría provocar modificaciones morfológicas y fisiológicas en las plantas. El menor peso de las plantas de campo podría reflejar un mecanismo de defensa que dirigiría los recursos de la planta sometida a estrés, del crecimiento al mantenimiento. Rodríguez *et al* (2005) encontraron que las plantas de margaritas de mar (*Astericus maritimus* L.) sometidas a

situaciones de estrés mostraron menor biomasa y una reducción temprana de la expansión foliar. Consistentemente con el resultado anterior, las plantas de lechuga provenientes de campo presentaron mayor número de hojas que las provenientes de invernadero pero con menor área promedio. Esto sería también un indicativo de que las condiciones ambientales más cambiantes producen una reducción de la expansión foliar, pero no del número de hojas.

Las plantas de invernadero, tanto las de invernadero tradicional como las de invernadero *mulch*, presentaron características morfológicas y de desarrollo análogas, con peso total, número de hojas y área de las hojas similares entre sí. La única diferencia observada fue una redistribución de las hojas en las zonas media e interna. La presencia de la cobertura plástica del suelo en las plantas cultivadas mediante *mulch*, producirían modificaciones del microambiente que rodea la planta que no llegarían a producir cambios morfológicos o en la tasa de desarrollo, por lo que no se afectó el número de hojas o la expansión foliar.

Todos los organismos que obtienen su energía de la fotosíntesis están expuestos al deterioro fotooxidativo, ocasionando daños en el sistema fotosintético II (SFII). Esto tiene el potencial de reducir la tasa fotosintética y disminuir la tasa de crecimiento (Melis, 1999). Cuando las plantas crecen en condiciones de campo, la respuesta al incremento de la radiación incidente puede enmascarse por el efecto adverso debido al incremento de la temperatura de las hojas y del suelo y por la reducción de la disponibilidad hídrica (Krug, 1997). Estas condiciones ambientales pueden desencadenar mecanismos de defensa de la planta, como el control estomático y la transpiración (Moretti *et al.*, 2010). Dado que la asimilación fotosintética del CO₂ vía estomas de las hojas, está inevitablemente asociada a la pérdida de agua hacia la atmósfera, casi todas las plantas se encuentran expuestas a cierto grado de estrés hídrico durante el período lumínico. El rápido cierre estomático puede afectar la asimilación del CO₂ durante la fotosíntesis, resultando en una menor tasa de fotosíntesis neta con la consiguiente disminución en la cantidad de fotoasimilados y menor biomasa. En estas condiciones también disminuye la tasa neta de fotosíntesis debido al aumento de la tasa respiratoria asociada al aumento de la temperatura. El control estomático y la regulación de la velocidad de transpiración (con la consecuente disminución del tamaño) permiten evitar el déficit hídrico antes condiciones de estrés moderadas, permitiendo mantener los niveles de hidratación

necesarios para llevar a cabo los procesos metabólicos necesarios (Diallo *et al.*, 2001). En las plantas de campo, las hojas podrían recuperar parte de la turgencia durante la noche aumentando así la tasa de expansión. Sin embargo, la pérdida repetida y prolongada de la turgencia en las hojas llevará a que la planta presente hojas de menor tamaño, por lo que menor cantidad de radiación será interceptada y se reduce el potencial de producción de biomasa (Fitter; Hay, 2002).

La cantidad de radiación es a menudo limitada en un invernadero y puede ser la mitad de la que se encuentra en el campo (Frantz, USDA). La cubierta plástica de los invernaderos modifica significativamente el balance de radiación interna con respecto a las condiciones ambientales externas, especialmente en lo que respecta a la absorción y reflexión de la radiación solar incidente (Casanova *et al.*, 2009). La tasa de emergencia y expansión de las hojas están muy influenciados por la temperatura, debido a esto aumentar la temperatura de la hoja es una forma indirecta de mejorar la captación de la luz (Frantz, USDA). En este sentido, una mayor superficie foliar en las lechugas de invernadero puede ser una estrategia de adaptación para aumentar la captación de luz y cubrir las demandas de la fotosíntesis.

Se observó una clara zonificación en función a la ubicación de las hojas en la planta, representada mediante los diferentes anillos. La variación en el peso de las zonas dentro de la planta puede ser asociada con la edad de las hojas y con la actividad metabólica de las mismas. Las hojas de los anillos externos, son hojas más desarrolladas, de mayor edad que las hojas de los anillos medios e internos.

4. Estado del agua

a. Contenido Relativo de Agua

El contenido relativo de agua (CRA) de las plantas se puede ver en la Figura 5. La interacción entre los factores método de cultivo y anillo no fue significativa ($p = 0.8312$) por lo que se analizaron los efectos principales.

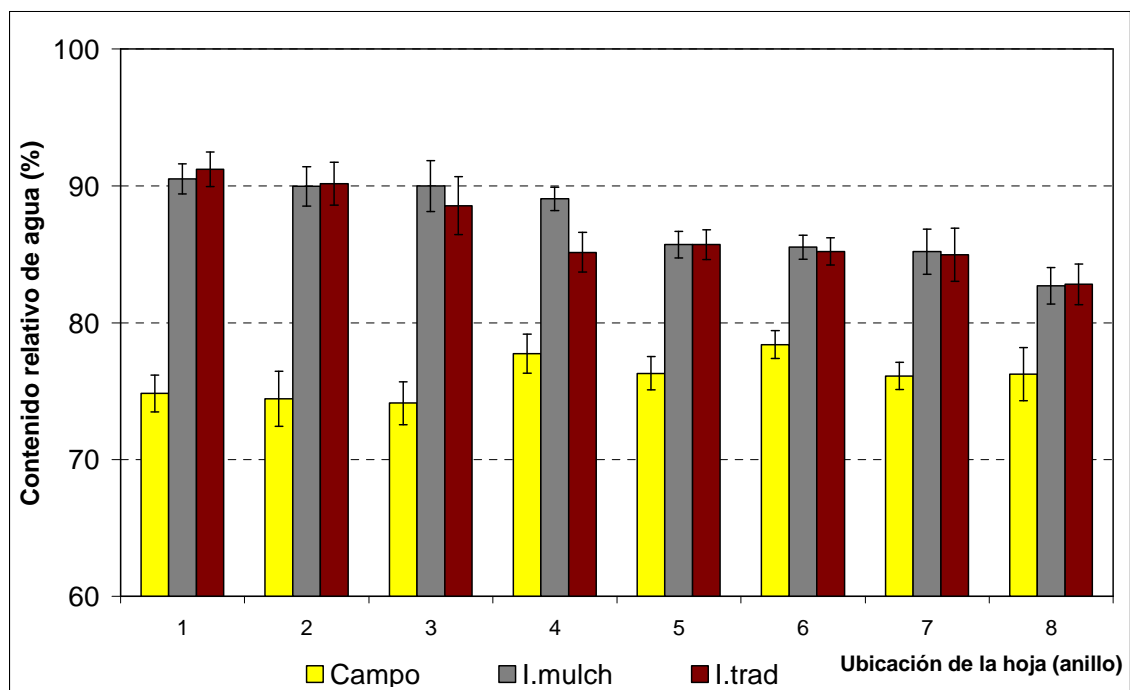


Figura 5: Contenido relativo de agua (CRA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

El método de cultivo utilizado en la producción de las plantas de lechuga influye significativamente en el CRA ($p < 0.0001$), siendo las plantas provenientes de campo las que tienen menor valor (76.0 %), sin diferencias significativas entre las provenientes de invernadero, con un valor medio de 87.0 % (Tabla 4). Estos resultados son coincidentes con los valores informados por Agüero *et al.* (2008) para lechuga proveniente de I.mulch (85.83 %) pero menores a los informados por Esparza-Rivero *et al.* (2005) para lechuga de hoja "Waldmann's" cultivadas en invernaderos, donde las medias fueron mayores a 98 %. Agüero *et al.* (2008) reportaron que generalmente, los valores normales del CRA en lechuga varían entre 98 % (tejido

turgentes) hasta 40 % (tejidos severamente deshidratados o senescentes). Lawlor (2002) propuso que cuando el CRA disminuye al 90 % comienzan los efectos sobre el control estomático y la expansión celular. Cuando el CRA se encuentra entre 80 y 90 % comienzan los efectos sobre los procesos fotosintéticos y respiratorios y cuando el CRA es menor al 80 % (equivalente a un potencial hídrico menor a -1.5 MPa) se interrumpe la fotosíntesis y ocurre la disrupción del metabolismo celular.

Tabla 4: Comparaciones de las medias del contenido relativo de agua (CRA) de las hojas de lechuga manteca para el efecto principal anillo y el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

| Anillo | CRA (%) | Método de cultivo | CRA (%) |
|--------|---------------------|-------------------|--------------------|
| 1 | 85.51 ^a | Campo | 76.02 ^a |
| 2 | 84.85 ^a | I.mulch | 87.33 ^b |
| 3 | 84.22 ^a | I.trad | 86.72 ^b |
| 4 | 83.98 ^{ab} | | |
| 5 | 82.57 ^b | | |
| 6 | 83.03 ^b | | |
| 7 | 82.09 ^b | | |
| 8 | 80.58 ^b | | |

La disminución del CRA observada en las plantas de campo indicaría una hidratación deficiente al momento de la cosecha. Este resultado es consistente con el menor peso de las plantas provenientes de campo, respecto de las de invernadero. La reducción del área de las hojas puede ser considerado un mecanismo de adaptación que tienen las plantas provenientes de campo, respecto de las obtenidas en invernaderos, que minimiza la pérdida de agua debido a la menor superficie expuesta (Rodríguez *et al.*, 2005).

La ubicación de la hoja dentro de la planta, según el anillo, produjo cambios significativos ($p=0.0017$) en el CRA de las plantas (Tabla 4). Los anillos externos (desde el anillo 1 al anillo 3) presentaron mayores valores de CRA que los internos (desde el anillo 5 al anillo 8). El valor del CRA del anillo 4 es intermedio entre ambos grupos, indicando la presencia de una zona de transición.

La diferencia observada en el CRA entre los anillos externos y los internos indica la diferente capacidad de retención de agua de las hojas debido al diferente grado de desarrollo de las mismas. Estos resultados coinciden con los informados por Agüero *et al.* (2008). Los anillos internos, compuestos por hojas más pequeñas y jóvenes, presentan mayor capacidad de retención de agua que las hojas que componen los anillos externos, donde las hojas son de mayor edad y por lo tanto presentan actividad metabólica diferente. Según Jones y Tardeu (1998), el agua es fundamental en los tejidos para un correcto desarrollo y una adecuada expansión celular. Patakas (2000) enunció que la edad y el estadio de desarrollo de las hojas se relacionan con la sensibilidad al déficit hídrico. Resultados similares fueron presentados por otros autores. Por ejemplo Diallo *et al.* (2001) encontraron que la conductancia estomática y la velocidad de transpiración fueron mayores en hojas de arvejas (*Vigna unguiculata var. L*) durante el final de la etapa vegetativa, lo que es consistente con los resultados presentados en este trabajo para los anillos externos, donde el CRA fue menor.

En tejidos maduros, la mayor parte del agua se encuentra contenida en las vacuolas. La delgada capa de citoplasma que está asociada al plasmalema y al tonoplasto puede ser considerada como una membrana semipermeable, que separa las vacuolas del medio externo. En las hojas, este medio externo es el agua que se encuentra en las paredes celulares y en los espacios intracelulares que se encuentran sujetos a la presión atmosférica. El potencial hídrico en las hojas con buen suplemento hídrico y transpiración reducida, será elevado. Dentro de la vacuola, el potencial hídrico se relaciona con la concentración de solutos, y debido a la alta concentración de los mismos, el potencial hídrico es menor al del medio exterior, por lo que la fuerza impulsora genera el ingreso de agua a las vacuolas, produciendo el incremento del volumen celular. Sin embargo, el volumen en las células maduras está limitado por la pared celular y sólo un pequeño volumen de agua ingresa a la vacuola. En consecuencia, la presión hidrostática o turgencia se incrementa dentro de las vacuolas, presionando el citoplasma contra la pared celular. A medida que aumenta la turgencia, las células adyacentes se presionan entre sí, otorgando a las hojas la turgencia característica (Fitter; Hay, 2002).

En tejidos en crecimiento, las relaciones hídricas son similares a las de los tejidos maduros, excepto que las paredes celulares pueden sufrir deformaciones

irreversibles (plásticas) para permitir la expansión celular que lleve al crecimiento del tejido. En principio, la tasa de expansión en tejidos inmaduros puede reducirse como resultado de la pérdida de turgencia (Fitter; Hay, 2002).

1.3.4.2. Contenido de Agua

El contenido de agua (CA) de la plantas de lechuga puede verse en la Figura 6. La interacción entre los factores método de cultivo y anillo no fue significativa ($p = 0.4639$) por lo que se analizaron los efectos principales.

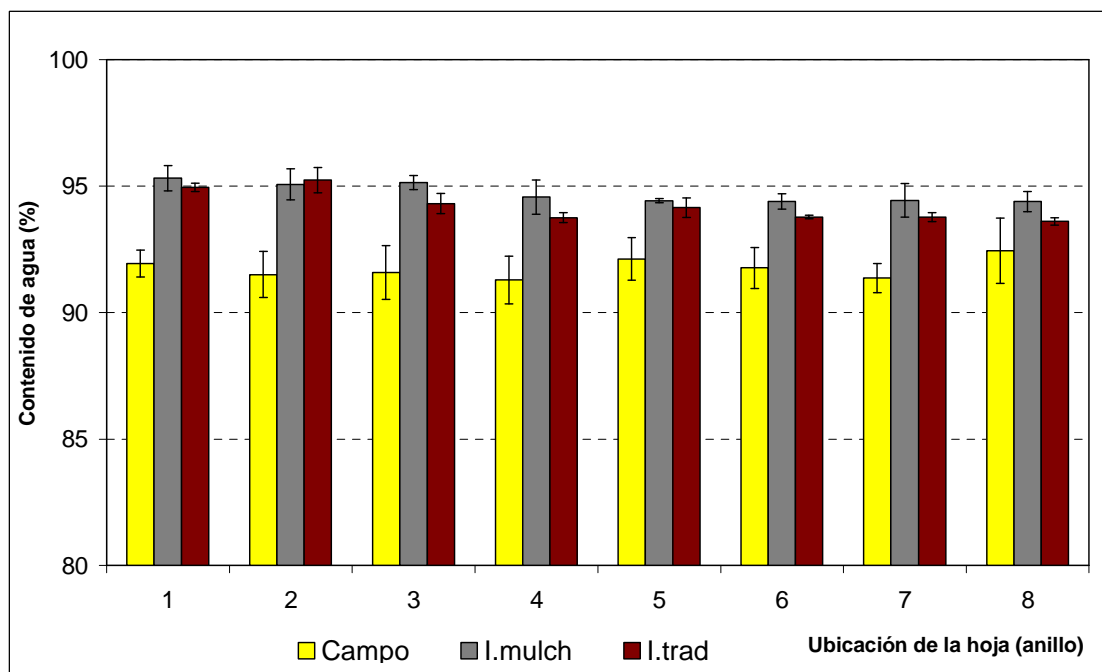


Figura 6: Contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

No se hallaron diferencias significativas para el factor anillo ($p = 0.1688$), para el CA, obteniéndose como promedio general 93.54 % (Tabla 5). El comportamiento del CA en los diferentes anillos de la planta no siguió la misma tendencia que el CRA, el cual sí mostró diferencias significativas (Tabla 4). Este comportamiento diferencial permitiría reafirmar la necesidad de medir el estado del agua con varios índices y no solamente con el CA. Además, la falta de diferencias significativas en el CA según el

anillo no debe ser considerada como que es independiente de la edad de la hoja o del grado de desarrollo, sino que se debería un mecanismo de respuesta de la planta a la atmósfera que la rodea. El CA es una medida gravimétrica, fuertemente correlacionada con las condiciones ambientales, es una función del equilibrio hídrico que se establece entre la planta y el medio ambiente.

El factor método de cultivo fue significativo ($p < 0.0001$) siendo las plantas de campo, respecto de las provenientes de invernadero, las de menor CA (Tabla 5). El CA medio en las plantas de *l.mulch* y *l.trad* no fue significativamente diferente, obteniéndose un valor promedio para ambos métodos de 94.45%.

Tabla 5: Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA) de las hojas de lechuga manteca según el efecto principal anillo y el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Los valores presentados corresponden los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

| Anillo | CA (%) | Método de cultivo | CA (%) |
|--------|--------------------|-------------------|--------------------|
| 1 | 94.06 ^a | Campo | 91.74 ^a |
| 2 | 93.92 ^a | <i>l.mulch</i> | 94.71 ^b |
| 3 | 93.67 ^a | <i>l.trad</i> | 94.18 ^b |
| 4 | 93.19 ^a | | |
| 5 | 93.55 ^a | | |
| 6 | 93.30 ^a | | |
| 7 | 93.18 ^a | | |
| 8 | 93.47 ^a | | |

c. Contenido de agua libre, agua unida y relación agua libre/agua total

La distribución espacial de los índices del estado de agua restantes (AL, AU y la relación AL/AT) pueden verse en la Figura 7. La interacción entre los factores método de cultivo y anillo fue significativa en los tres índices mencionados ($p < 0.05$) indicando una respuesta diferenciada de la planta respecto a los índices de agua, según el método de cultivo y la ubicación en la planta. El análisis de los resultados se realiza en función a las medias de los efectos simples de cada factor.

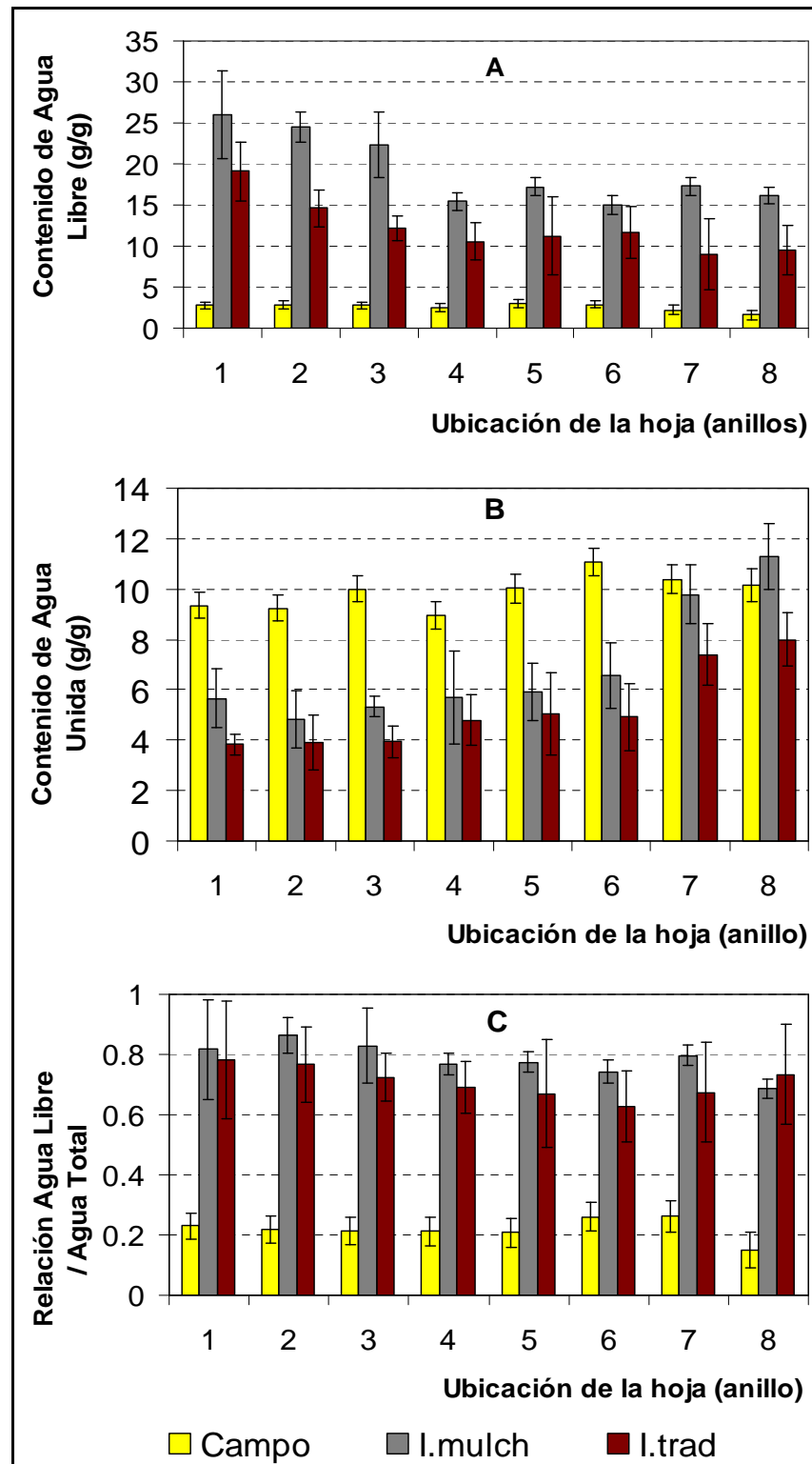


Figura 7: Contenido de agua libre (AL), agua unida (AU) y la relación agua libre/agua total (AL/AT) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

El contenido en AL fue significativamente menor para las plantas de campo en todos los anillos (Tabla 6). Entre las plantas de invernadero, las provenientes de *I.mulch* presentaron mayor contenido de AL que las provenientes de *I.trad*. El contenido en AL en las plantas de campo fue entre 5 y 10 veces menor que el correspondiente a las plantas de *I.mulch*, y entre 4 y 6 veces menor que el de las plantas de *I.trad*.

En las plantas de campo el contenido de AU fue significativamente mayor que el de las plantas de invernadero (Tabla 7), en concordancia con los resultados del AL. En cambio, el contenido en AU de las plantas provenientes de *I.mulch* fue significativamente mayor que en las plantas provenientes de *I.trad* sólo en los anillos 1, 3, 6, 7 y 8 (Tabla 7). En el resto de los anillos, las diferencias entre ambos métodos de cultivo no fueron significativas. El AU fue mayor en las plantas de campo, para todos los anillos.

Respecto de la ubicación de la hoja en la planta (anillo), no se encontraron diferencias significativas para el AL en las plantas de campo (Tabla 6), con un valor medio de 2.57 g.g^{-1} . Sí se encontraron diferencias significativas entre los distintos anillos de las plantas de invernadero, con valores mayores en los anillos exteriores. En las plantas *I.mulch*, los primeros dos anillos presentaron AL significativamente mayores que los restantes, con un valor medio de 25.76 g.g^{-1} en los primeros y de 16.09 g.g^{-1} para los últimos anillos. En las plantas *I.trad*, el mayor AL correspondió al anillo 1, sin una tendencia definida en el resto de los mismos.

Analizando el efecto del anillo en cada método de cultivo se observan para las plantas de campo diferencias no significativas en el contenido de AU, presentando un valor promedio de 9.89 g.g^{-1} . En las plantas de invernadero se observó AU mayor para los anillos internos (anillo 7 y 8) que en el resto. Para las plantas de *I.mulch*, el anillo 4 marcó la zona de transición en la planta a partir del cual aumentó AU (Tabla 7).

La relación AL/AT también presentó una interacción significativa entre los factores método de cultivo y anillo ($p = 0.1052$). Las plantas de campo presentaron menor relación AL/AT que las de invernadero, en todos los anillos (Tabla 8). Si bien las diferencias no son significativas, las plantas *I.mulch* muestran tendencias a valores más altos de la relación AL/AT que las plantas provenientes de *I.trad*. No se

encontraron diferencias significativas entre los diferentes anillos para las plantas l.trad. Por otro lado, entre las plantas de campo y de l.mulch, las diferencias significativas se observaron sólo entre el último anillo (anillo 8) y el resto (Tabla 8).

Tabla 6: Comparaciones de las medias del contenido en agua libre (AL) de las hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Anillo | Campo | l.mulch | l.trad |
|--------|--------------------|---------------------|----------------------|
| 1 | 2.82 ^{Aa} | 26.00 ^{Ab} | 19.10 ^{Ac} |
| 2 | 2.82 ^{Aa} | 25.52 ^{Ab} | 14.62 ^{Bc} |
| 3 | 2.78 ^{Aa} | 15.42 ^{Bb} | 12.16 ^{Bc} |
| 4 | 2.49 ^{Aa} | 15.42 ^{Bb} | 10.51 ^{Cc} |
| 5 | 2.96 ^{Aa} | 17.25 ^{Bb} | 11.23 ^{BCc} |
| 6 | 2.91 ^{Aa} | 15.00 ^{Bb} | 11.66 ^{BCc} |
| 7 | 2.25 ^{Aa} | 17.30 ^{Bb} | 9.03 ^{CDc} |
| 8 | 1.59 ^{Aa} | 16.16 ^{Bb} | 9.50 ^{Cc} |

Tabla 7: Comparaciones de las medias del contenido en agua unida (AU) de las hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Anillo | Campo | l.mulch | l.trad |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 9.35 ^{Aa} | 3.83 ^{Ab} | 5.64 ^{Ac} |
| 2 | 9.23 ^{Aa} | 3.91 ^{Ab} | 4.84 ^{Ab} |
| 3 | 10.00 ^{Aa} | 3.94 ^{Ab} | 5.33 ^{Ac} |
| 4 | 8.95 ^{Aa} | 4.79 ^{ABb} | 5.68 ^{Ab} |
| 5 | 10.01 ^{Aa} | 5.03 ^{Bb} | 5.93 ^{Ab} |
| 6 | 11.07 ^{Aa} | 4.92 ^{Bb} | 6.56 ^{Ab} |
| 7 | 10.38 ^{Aa} | 7.39 ^{Cb} | 9.78 ^{Bc} |
| 8 | 10.15 ^{Aa} | 8.00 ^{Db} | 11.29 ^{Ca} |

Tabla 8: Comparaciones de las medias de la relación agua libre/ agua total (AL/AT) de las hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Anillo | Campo | I.mulch | I.trad |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 0.22 ^{Aa} | 0.81 ^{Ab} | 0.78 ^{Ab} |
| 2 | 0.21 ^{Aa} | 0.86 ^{Ab} | 0.76 ^{Ab} |
| 3 | 0.21 ^{Aa} | 0.82 ^{Ab} | 0.72 ^{Ab} |
| 4 | 0.21 ^{Aa} | 0.76 ^{Ab} | 0.69 ^{Ab} |
| 5 | 0.20 ^{Aa} | 0.77 ^{Ab} | 0.67 ^{Ab} |
| 6 | 0.25 ^{Aa} | 0.74 ^{Ab} | 0.62 ^{Ab} |
| 7 | 0.26 ^{Aa} | 0.79 ^{Ab} | 0.67 ^{Ab} |
| 8 | 0.14 ^{Ba} | 0.68 ^{Bb} | 0.73 ^{Ab} |

5. Color

a. Parámetros L^* a^* b^*

El estudio del color implica la representación del estímulo recibido por el ojo humano. Existen varios modelos que tratan de representar la percepción del color de manera objetiva. En este estudio se utilizó la escala CIELab (Westland, 2001). La misma define tres parámetros (L^* , a^* y b^*) mediante los cuales describe todo el espectro de color. El parámetro L^* , que representa la luminosidad del color, puede tomar valores en una escala que va del 0 al 100, en la cual el valor 0 corresponde al color negro y el valor 100, al blanco. Los parámetros a^* y b^* no tienen una escala acotada, pero pueden tomar valores positivos o negativos. El parámetro a^* corresponde a la variación entre el rojo (a^+) y el verde (a^-) mientras que el parámetro b^* representa la variación entre el color amarillo (b^+) y el color azul (b^-). Los rangos de valores obtenidos en el presente estudio son similares a los presentados por Fonseca (2006) para lechuga Iceberg donde informó valores de 63.74, -15.80 y 28.54 para el parámetro L^* , a^* y b^* , respectivamente (valor correspondiente a la planta entera).

Los valores correspondientes de los parámetros L^* , a^* y b^* para cada método de cultivo y para los anillos, se muestran en la Figura 8. La interacción entre los factores método de cultivo y anillo fue no significativa en los parámetros de color ($p = 0.5325$, $p = 0.4228$ y $p = 0.1536$ para L^* , a^* y b^* , respectivamente). Para cada uno de los parámetros se analizan los efectos principales (Tabla 9 y Tabla 10).

Analizando el método de cultivo se observa que las plantas de I.mulch presentaron un valor del parámetro L^* significativamente mayor que las plantas I.trad y campo, siendo las más brillosas (Tabla 9). No se observaron diferencias significativas entre las plantas provenientes de campo y de I.trad respecto del valor del parámetro L^* . Las plantas provenientes de invernadero presentaron un menor valor del parámetro a^* que las plantas de campo. Las diferencias entre los tres métodos del parámetro b^* fueron significativas en los tres casos, presentando el menor valor las plantas provenientes de campo, y dentro de las de invernadero, el menor valor corresponde a las de I.trad.

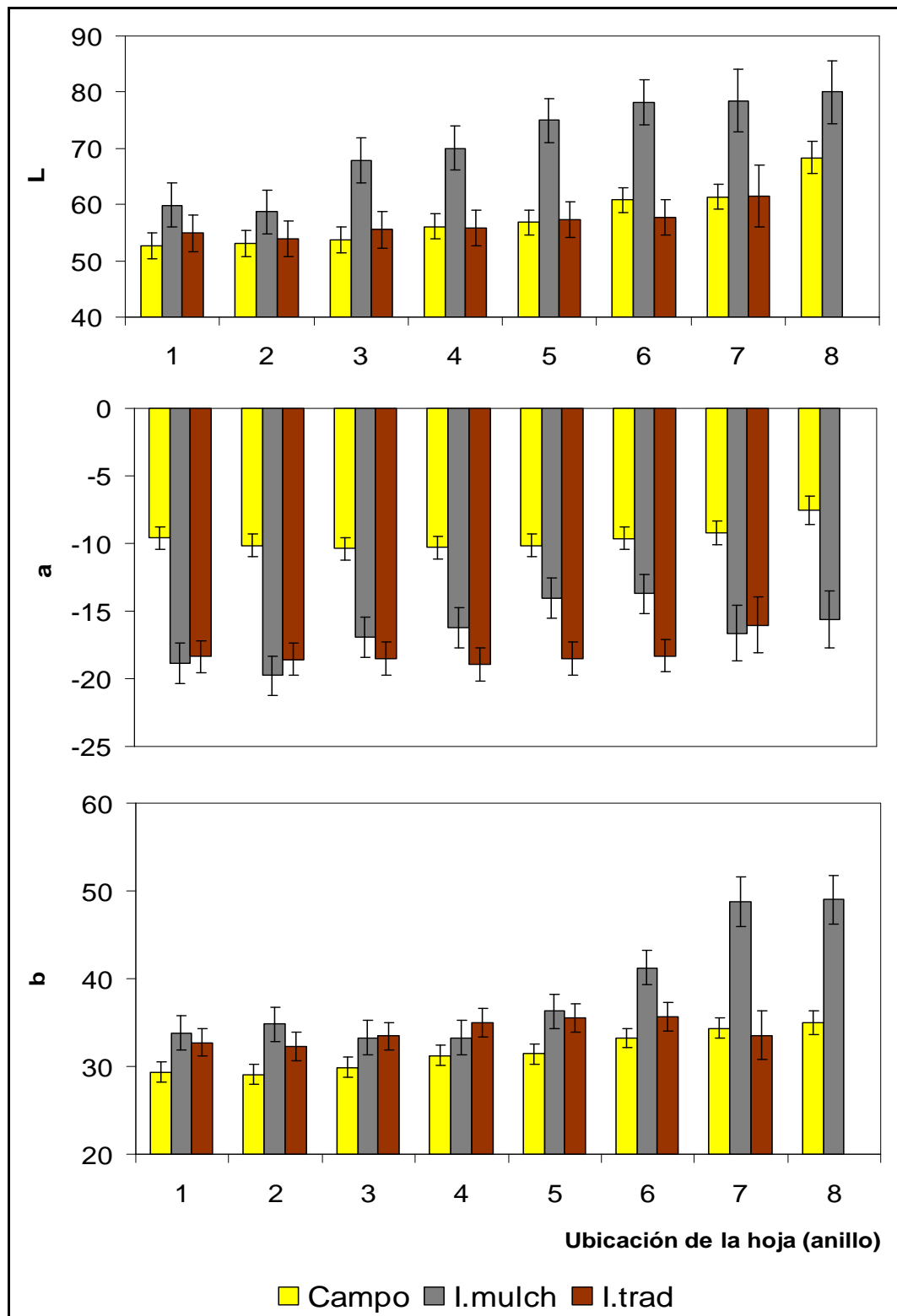


Figura 8: Parámetros de color L^* , a^* y b^* en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillos). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

Analizando el comportamiento de los parámetros de color para los distintos anillos se observó que los internos fueron más brillosos, presentando mayores valores del parámetro L^* (Tabla 10). Sin embargo, se observó una uniformidad del parámetro a^* en los anillos externos y medios, con un valor medio de -13.60, sin diferencias significativas hasta el último anillo (-11.57). El parámetro b^* se mantuvo constante hasta el anillo 4 (con valor medio de 32.35), presentando el anillo 5, un valor del parámetro b^* de 34.42, un valor de transición hacia los mayores valores en los últimos anillos.

Tabla 9: Comparaciones de las medias de los parámetros de color L^* , a^* , b^* y del índice de color (IC) de las hojas de lechuga manteca, según el efecto principal método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$.

| Parámetro de color | L^* | a^* | b^* | IC |
|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Método de cultivo | | | | |
| Campo | 56.35 ^a | -9.91 ^a | 31.22 ^a | -5.85 ^a |
| I.mulch | 69.72 ^b | -16.59 ^b | 37.36 ^b | -6.71 ^b |
| I.trad | 56.68 ^a | -18.17 ^b | 34.04 ^c | -9.47 ^c |

Tabla 10: Comparaciones de las medias de los parámetros de color L , a , b y del índice de color (IC) de las hojas de lechuga manteca para el efecto principal anillo. Los valores presentados corresponden los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

| Anillo | L^* | a^* | b^* | Índice de Color |
|--------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 55.82 ^a | -15.60 ^a | 31.97 ^a | -8.59 ^a |
| 2 | 55.24 ^a | -16.16 ^a | 32.08 ^a | -8.97 ^a |
| 3 | 59.02 ^a | -15.27 ^a | 32.20 ^a | -8.00 ^a |
| 4 | 60.66 ^a | -15.15 ^a | 33.17 ^a | -7.55 ^a |
| 5 | 63.01 ^b | -14.23 ^a | 34.42 ^{ab} | -6.66 ^{ab} |
| 6 | 65.57 ^b | -13.88 ^a | 36.71 ^b | -6.01 ^b |
| 7 | 67.13 ^b | -13.95 ^a | 38.90 ^b | -5.54 ^b |
| 8 | 74.19 ^c | -11.57 ^b | 42.00 ^c | -3.69 ^c |

El parámetro L^* en los anillos externos mostró valores menores a los de los anillos interiores. Valores menores del parámetro L^* pueden ser asociados a un color más oscuro ($L = 0$ representa el color negro) por lo que, debido a que las plantas de lechuga no fueron lavadas, era esperable que las hojas de la zona externa presenten menor luminosidad, asociada a la suciedad resultante del contacto con la tierra y a la exposición a mayores corrientes de viento comparado con las de los anillos interiores.

b. Índice de color

La evolución del índice de color (IC) puede verse en la Figura 9 para cada método de cultivo y cada anillo. El índice de color (IC) tiene como objetivo facilitar la interpretación de los parámetros de color utilizados comúnmente (escala CIELab) y reducir la cantidad de información requerida para presentar los resultados. Según fue definido el IC (Vignoni *et al.*, 2006) aplicado a la lechuga manteca debería tomar valores en el rango de -20 (verde profundo) al -2 (amarillo verdoso). En el presente trabajo, el rango observado para las observaciones fue de -8 a -2, asociando dichos valores a la gama del verde claro al verde amarillento, coincidente con lo esperado en lechuga. Este resultado confirmaría que la aplicación del IC (definido para ajo) a lechuga es posible.

La interacción entre los factores método de cultivo y anillo no fue significativa ($p = 0.1061$), por lo que se analizaron los efectos principales (Tabla 9 y Tabla 10). El IC fue significativamente diferente entre los tres métodos de cultivo, siendo las plantas de I.trad las que presentaron un color más verde, según la escala presentada. Las plantas de campo fueron menos verdes que las plantas provenientes de I.mulch.

El color verde de la lechuga se relaciona con el contenido en clorofila de las hojas (Conte *et al.*, 2008) y con el contenido en carotenos. Ambos pigmentos son sensibles a las condiciones de la planta durante su desarrollo (Caldwell; Britz, 2006). La clorofila es muy lábil, la degradación enzimática, por acción de la clorofilasa, produce la conversión de la clorofila en feofitina, un compuesto de color marrón. La feofitina se forma por la remoción del magnesio de la molécula de clorofila, posiblemente por el contacto de la clorofila con ácidos. El contenido de las vacuolas es ácido por lo que si se produce daño estructural en las células que libere los compuestos ácidos, estos podrían dañar al pigmento. Además, la mayor intensidad de

luz recibida por las plantas provenientes de campo puede producir daños en el sistema fotosintético II (SFII) y reducir la cantidad de clorofila por oxidación ya que se forma mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno (Melis *et al.*, 1999).

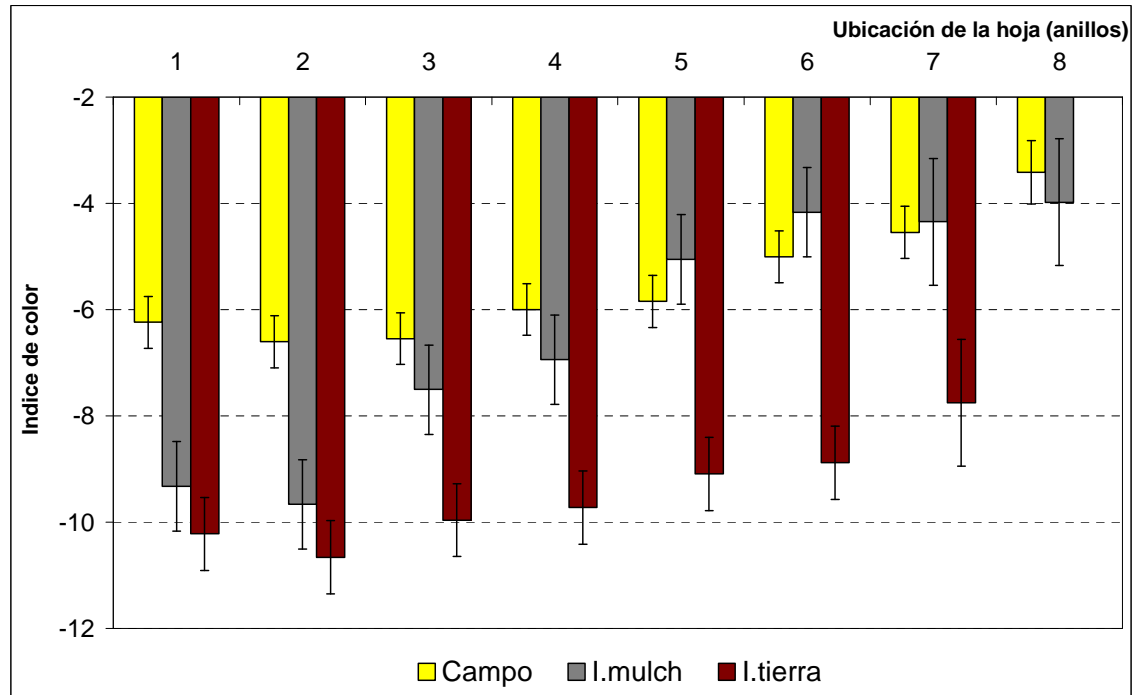


Figura 9: Índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, *mulch* y tierra) y la posición en la planta (anillos). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

La presencia del plástico negro en las plantas de l.mulch genera que la integral de radiación total que recibe sea diferente a la recibida por las plantas de los otros métodos de cultivo. La concentración de los pigmentos fotosintéticos en las hojas se relaciona directamente con la radiación incidente. Varios estudios han analizado los efectos de las diferencias en la calidad y cantidad de radiación incidente. Pandley *et al.* (2003) trabajando con soja sometida a períodos prolongados de alta irradiancia, encontraron que el contenido total de carotenos aumentó a la vez que disminuyó el contenido en clorofila. También se observó que el plástico negro retiene mayor cantidad de radiación reduciendo por lo tanto, la cantidad de radiación reflejada.

El IC mostró una tendencia clara en la cual se observó que los anillos interiores son menos verdes que los externos (Tabla 10). Las diferencias significativas respecto de IC se observaron a partir del anillo 5, siendo este último nuevamente un anillo de

transición entre los primeros anillos (con valores de IC dentro de los verdes) hacia los anillos interiores con mayores valores de IC (indicando coloraciones más amarillentas). Este resultado es consistente con que las hojas internas no son autosuficientes fotosintéticamente sino que actúan como destino de fotoasimilados. A medida que la hoja madura, se transforma en fuente de fotoasimilados en lugar de destino, ya que fotosintetiza lo suficiente como para suplir los procesos de mantenimiento y respiración. Este incremento en la tasa fotosintética implica un incremento en la cantidad de pigmentos fotosintéticos presentes en la hoja, con el consiguiente aumento en el color verde.

6. Contenido de ácido ascórbico reducido

El contenido en ácido ascórbico reducido (AA) de las plantas de lechuga al momento de la cosecha para los anillos puede verse en la Figura 10. El AA fue dependiente del método de cultivo y anillo con una interacción significativa ($p = 0.0003$). Debido a la interacción significativa se analizaron los efectos simples (Tabla 11).

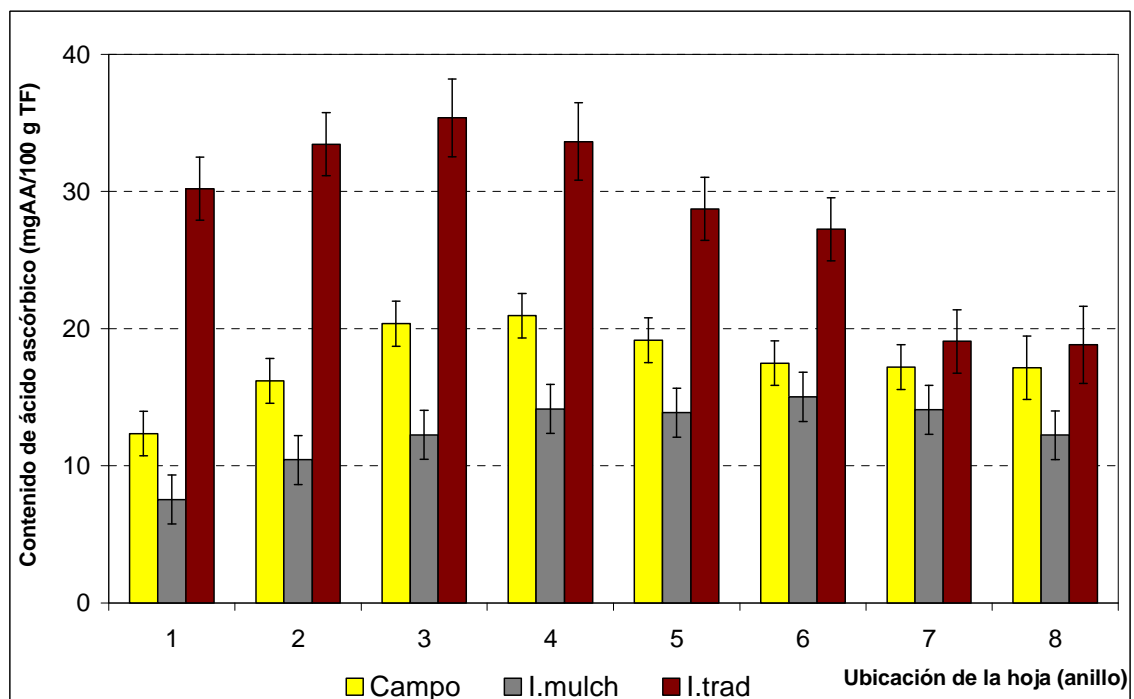


Figura 10: Contenido en ácido ascórbico (AA) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillo). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

El mayor contenido de AA se encontró para las plantas de I.trad en los anillos externos y medios (entre el anillo 1 y el 6). Se pudo observar que los anillos externos y medios de las plantas de I.trad contenían una cantidad significativamente mayor de AA que las provenientes de campo e I.mulch. Las diferencias encontradas para los anillos externos y medios entre las plantas provenientes de campo y de I.mulch no fueron significativas estadísticamente ($p > 0.05$). Sin embargo, en todos los anillos analizados, el valor medio de AA obtenido en las plantas de campo fue mayor que el correspondiente a las plantas de I.mulch. La falta de significancia en estas diferencias puede ser atribuida a la gran variabilidad en los datos.

Tabla 11: Comparaciones de las medias del contenido de ácido ascórbico (AA) de las hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Anillo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 12.35 ^{Aa} | 7.53 ^{Aa} | 30.20 ^{Ab} |
| 2 | 16.18 ^{ABa} | 10.43 ^{Aa} | 33.44 ^{Ab} |
| 3 | 20.36 ^{ABa} | 12.24 ^{Aa} | 35.37 ^{Ab} |
| 4 | 20.94 ^{ABa} | 14.15 ^{Aa} | 33.63 ^{Ab} |
| 5 | 19.16 ^{Bab} | 13.87 ^{Ab} | 28.73 ^{Aa} |
| 6 | 17.48 ^{ABab} | 15.01 ^{Ab} | 27.24 ^{Aa} |
| 7 | 17.19 ^{ABa} | 14.08 ^{Aa} | 19.07 ^{Ba} |
| 8 | 17.14 ^{ABa} | 12.23 ^{Aa} | 18.82 ^{Ba} |

Roura *et al* (2003) y Moreira *et al* (2005) trabajando con lechuga Romana reportaron valores iniciales de AA de 8.3 ± 1.0 y 9.4 ± 1.6 mg AA / 100 g TF, respectivamente. Moreira *et al* (2006) reportó gran variabilidad en el contenido de AA al momento de la cosecha, con valores entre 6.0 y 16.6 mg AA / 100 g TF. No se encontraron diferencias significativas entre métodos de cultivo para los anillos internos (anillos 7 y 8). En un estudio realizado por Toledo *et al.* (2003) sobre 5 variedades diferentes de lechuga también encontraron variaciones en el contenido de AA, con un rango de valores entre 4.2 y 19.5 mg AA / 100 g TF. Cabe destacar que todos estos valores informados de estudios previos corresponden a muestras compuestas por la planta entera, sin diferenciar dentro de la misma las zonas.

Las diferencias observadas entre los métodos de cultivo pueden ser relacionadas a las diferentes prácticas de manejo y como estas afectarían las condiciones en el microambiente que rodea la planta. El uso de invernaderos frente a las plantas de campo, produce un incremento en la temperatura, modifica la cantidad y la calidad de la radiación incidente y protege las plantas del viento, disminuyendo la pérdida de agua. El uso de invernaderos con mulch produce un incremento en la temperatura del suelo cercana a los 2 °C (Fontanelli Verdial *et al.*, 2001) y afecta también la integral de radiación que llega a la planta y mantiene los niveles de

hidratación del suelo (Liakatas *et al.*, 1986). Todas estas modificaciones tienen un impacto en el balance entre los procesos de degradación y los procesos de síntesis, entre ellos la síntesis de AA y polifenoles así como también el proceso de fotosíntesis y respiración (Franck *et al.*, 2007).

Las plantas cultivadas en I.mulch presentaron menor contenido en AA que las provenientes de I.trad. Este resultado es coincidente con el de Wojciechowska *et al.* (2007) quienes encontraron menores contenidos de AA en plantas de lechuga y de apio al ser cultivadas con *mulch*. El plástico negro del *mulch* interceptaría parte de la radiación incidente disminuyendo así la cantidad de especies reactivas de oxígeno que se forman en las hojas. Esta disminución del estrés oxidativo podría disminuir la respuesta fisiológica de la planta, inhibiendo la síntesis de ácido ascórbico en las plantas provenientes de *I.mulch*.

Las mayores diferencias en el contenido en AA entre las plantas de campo y las de I.trad se observaron en los anillos más externos. Estas diferencias podrían estar relacionadas con la oxidación del AA en presencia de las especies reactivas de oxígeno que se generen debido a la exposición a las radiaciones elevadas. Por otro lado, el menor contenido observado en los anillos externos de las plantas provenientes de I.mulch parece contradecir esta teoría. Sin embargo, en un estudio realizado por Oh *et al.* (2009) encontraron que las plantas de lechuga pueden producir componentes antioxidantes como respuesta a situaciones de estrés, tanto lumínico como térmico. Si este es el caso, las plantas de I.mulch, por encontrarse en un ambiente mucho más protegido que las de campo y más estable que las de I.trad, podría no requerir la síntesis de estos compuestos antioxidantes, entre ellos el AA, resultando en menores contenidos. Oh *et al.* (2009) encontraron que leves variaciones en la temperatura o un día con intensidades de radiación superiores a las normales de crecimiento eran suficientes para disparar en la planta los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo, lo que sería el caso de las plantas de I.trad.

Observando las diferencias entre anillos para el mismo método de cultivo se encontró un mayor contenido en AA en los anillos externos de I.trad (31.43 mg AA / 100 g TF) respecto de los anillos internos (18.94 mg AA / 100 g TF). En las plantas provenientes de campo se observó una tendencia de mayor contenido de AA en los anillos medios (anillos 3 a 5), sin embargo las diferencias no fueron significativas ($p >$

0.05). En las plantas de l.mulch, no se observaron tendencias ni crecientes ni decrecientes en el contenido de AA, excepto por el anillo 1 que presenta menor valor que el resto, pero nuevamente esta diferencia no es significativa.

Varios factores ambientales y de manejo pueden ser responsables de las variaciones encontradas en el contenido de AA entre los anillos. Las hojas de los anillos externos se encuentran más expuestas a los factores ambientales (radiación, cambios en la temperatura, daño mecánico, etc.) lo que induce respuestas fisiológicas en la planta. En general, se observó una disminución del contenido en AA de las plantas a medida que las hojas maduraron. Estos resultados están en coincidencia con los presentados por Guerra *et al.* (2010). En las hojas externas, más maduras, el ácido dehidroascórbico (AHA), forma oxidada del AA, representa una proporción considerable de la vitamina C, lo que podría indicar una menor capacidad de los tejidos maduros para reducir el AHA a AA (Toledo *et al.*, 2003; Hodges; Forney, 2003). El AA tiene mayor capacidad antioxidante potencial que el AHA. La disminución en el contenido de AA en las hojas de los anillos externos de la planta tiene implicaciones fisiológicas, para la planta debido a la menor capacidad de defensa frente al estrés oxidativo, y para la salud humana, cuando forma parte de la dieta por su menor valor nutricional (Guerra *et al.*, 2010).

La edad de la hoja, además de la ubicación podría ser determinante del contenido en AA. Las hojas internas de las plantas son más jóvenes, se encuentran en expansión y con mayor actividad metabólica. Diversos autores han reportado variaciones en el contenido de AA en diferentes estadios de madurez en varios vegetales (Audisio *et al.* 1995, Lee; Kader, 2000; Roura *et al.*, 2001). Ohe *et al.*, (2005) encontró que las hojas maduras de tabaco tienen menor capacidad antioxidante que las jóvenes, debido a una disminución en el contenido de ascorbato. Resultados similares encontraron Casano *et al.*, (1999) trabajando con plantas de cebada y Guerra *et al.* (2010) trabajando con plantas de apio.

7. Recuentos Microbiológicos

Los recuentos microbiológicos obtenidos por anillos en cada método de cultivo se muestran en la Figura 11, expresados como log UFC / g TF. En general, los recuentos medios obtenidos al momento de la cosecha fueron de entre 6 y 7 log UFC / g TF, y pertenecen al rango considerado como normales (Fischer-Arndt *et al.*, 2010). En todos los casos se observó una elevada variabilidad. Este resultado es consistente con los resultados presentados por Ponce *et al.* (2002) quienes trabajando con acelga (*Beta vulgaris var. cycla*) reportaron grandes diferencias en los valores de los recuentos iniciales, atribuyendo las diferencias a factores ambientales. El análisis de la varianza de los recuentos encontró que la interacción entre los factores método de cultivo y anillo fue significativa ($p = 0.0053$). En la Tabla 12 se presentan las comparaciones entre los efectos simples de los factores.

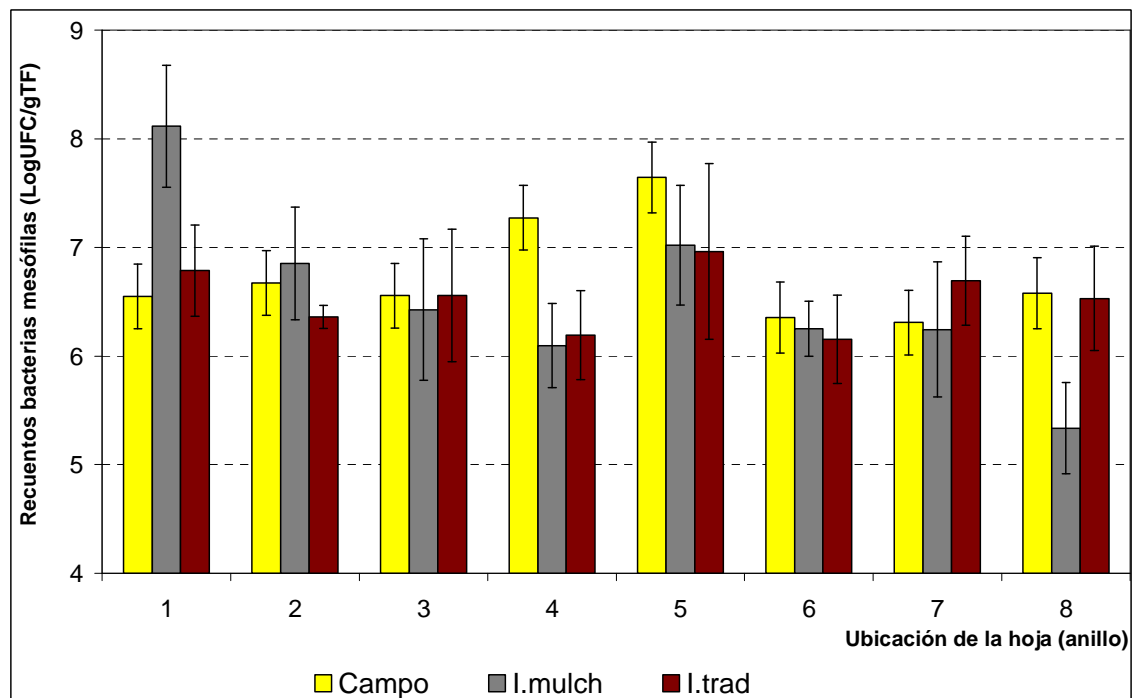


Figura 11: Recuentos microbiológicos (log UFC / g TF) de lechuga manteca, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la posición en la planta (anillo). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Anillo 1: hojas externas. Anillo 8: hojas internas.

Comparando para un mismo anillo no se encontraron diferencias significativas, en los recuentos de las plantas provenientes de campo y de I.mulch (Tabla 12, letras

minúsculas). Por otro lado, sí se encontraron diferencias significativas con los recuentos de las plantas provenientes de l.mulch en algunos de los anillos.

En general, el método de cultivo no afectó los recuentos microbiológicos iniciales (Figura 11). Sólo las plantas de l.mulch presentaron recuentos mayores que las restantes en el anillo 1, con recuentos de 8.11, 6.54 y 6.78 Log UFC / g TF para l.mulch, campo e l.trad, respectivamente. En el anillo 8 las diferencias fueron significativas y mostraron un recuento menor en las plantas de l.mulch, comparadas con las de campo y de l.trad, con recuentos 5.33, 6.57 y 6.53 Log UFC / g TF, respectivamente.

Tabla 12: Comparaciones de las medias de los recuentos de bacterias aerófilas mesófilas totales (log UFC / g TF) de las hojas de lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y anillo. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | l.mulch | l.trad |
|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Anillo | | | |
| 1 | 6.54 ^{Aa} | 8.11 ^{Ab} | 6.78 ^{Aa} |
| 2 | 6.67 ^{Aa} | 6.85 ^{Ba} | 6.36 ^{Aa} |
| 3 | 6.55 ^{Aa} | 6.42 ^{Ba} | 6.55 ^{Aa} |
| 4 | 7.27 ^{Ba} | 6.09 ^{Bb} | 6.19 ^{Ab} |
| 5 | 7.64 ^{Ca} | 7.02 ^{ABa} | 6.96 ^{Aa} |
| 6 | 6.35 ^{Aa} | 6.25 ^{Ba} | 6.15 ^{Aa} |
| 7 | 6.30 ^{Aa} | 6.24 ^{Ba} | 6.69 ^{Aa} |
| 8 | 6.57 ^{Aa} | 5.33 ^{Cb} | 6.53 ^{Aa} |

Los resultados obtenidos en este estudio fueron consistentes con resultados previos presentados por otros autores, para la misma variedad de lechuga (Agüero *et al.*, 2008) y para otras variedades. Roura *et al.* (2003) encontraron recuentos iniciales en lechuga Romana (informando un valor de recuento correspondiente a la planta entera) en el rango de 5.00 a 6.48 Log UFC / g TF. Abadias *et al.* (2008) también informaron recuentos iniciales altos para lechuga Romana y Iceberg, aún cuando sus muestras provenían de los puntos de venta.

8. Análisis Sensorial

En el Anexo A se muestran algunas fotos de las plantas de lechuga manteca utilizadas durante los ensayos sensoriales, junto a imágenes donde se pueden ver los descriptores analizados por los jueces.

a. Pardeamiento en la zona de corte

Los puntajes medios asignados por los jueces al descriptor asociado al pardeamiento en la zona de corte (PZC) según el método de cultivo utilizado fueron 1.55, 1.13 y 1.08 para las plantas de campo, *I.mulch* y *I.trad* respectivamente (Figura 12). Del análisis de la varianza se observa que el puntaje correspondiente a las plantas de campo resultó significativamente menor ($p = 0.0003$) que el correspondiente a las plantas de invernadero, entre las cuales no se encontraron diferencias significativas ($p = 0.6521$), con un puntaje medio de 1.11.

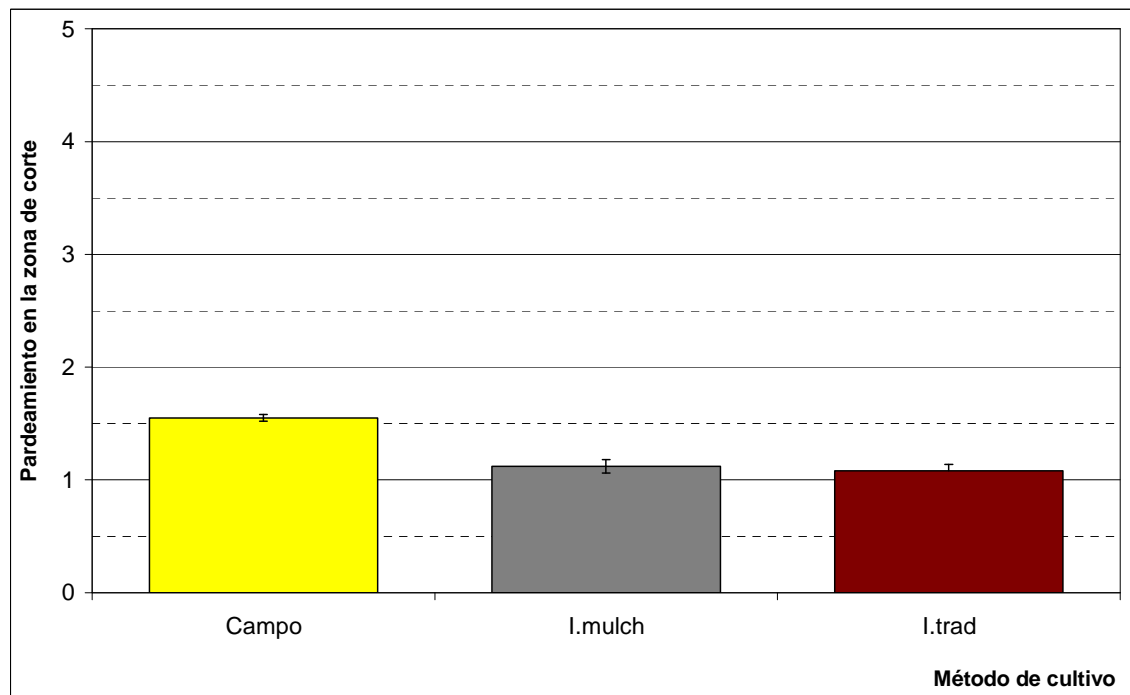


Figura 12: Puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca, según el método de cultivo empleado (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores corresponden a la estimación de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

b. Pardeamiento enzimático en hojas

Los valores correspondientes al puntaje referido a la presencia de pardeamiento en las hojas (PEH) al momento de la cosecha se observan en la Figura 13A. El análisis de la varianza para el puntaje para el PEH mostró una interacción significativa entre el factor método de cosecha y el factor anillo ($p = 0.0021$).

Los puntajes obtenidos para la presencia de pardeamiento en las hojas de plantas de campo fueron significativamente mayores a los de invernadero, pero sólo en las hojas de la zona externa (Tabla 13). El resto de las diferencias, si bien no fueron significativas ($p > 0.05$) indican una tendencia en las plantas de campo a obtener puntajes mayores, indicando la presencia de pardeamiento en las hojas. Esto es consistente con los resultados obtenidos para el descriptor de color (Tabla 14) y para el IC (Tabla 9).

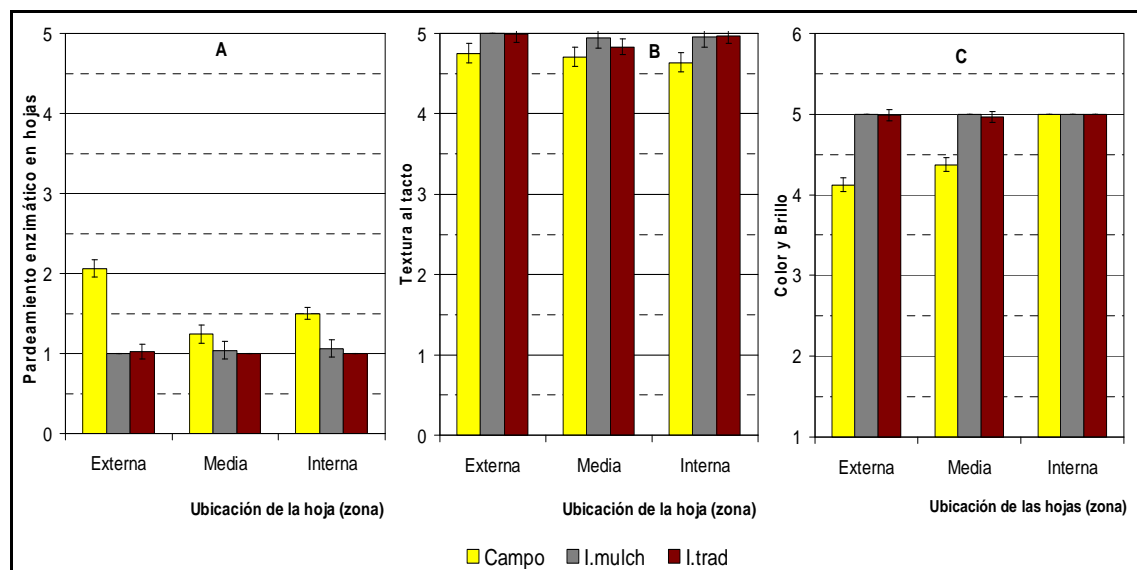


Figura 13: Puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en las hojas (PEH), textura al tacto (TXT) y color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y la ubicación de las hojas (zona). Los valores corresponden a la estimación de la media por el método de mínimos cuadrados \pm desviación estándar.

El pardeamiento enzimático en las plantas provenientes de campo fue dependiente del método de cultivo, siendo las plantas de campo las que presentaron puntajes mayores a los de las plantas provenientes de invernadero. Este rápido

pardeamiento de la zona de corte que se produce en las plantas de campo es causante de la disminución de la calidad de la planta. Al cosechar la planta y separarla de la raíz mediante el corte, se produce ruptura celular y descompartmentalización, lo que desencadena la reacción de pardeamiento. En las plantas de campo, los mayores valores de puntaje obtenidos se deberían a un mayor contenido de compuestos fenólicos sintetizados en respuesta al estrés al que fue sometida durante el desarrollo.

Tabla 13: Comparaciones de los puntajes medios asignados al descriptor textura al tacto (TXT) en las hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y ubicación en la hoja (zona). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 2.1 ^{Aa} | 1.0 ^{Ab} | 1.1 ^{Ab} |
| Media | 1.3 ^{Ba} | 1.1 ^{Aa} | 1.0 ^{Aa} |
| Interna | 1.5 ^{Ca} | 1.1 ^{Aab} | 1.0 ^{Ab} |

c. Textura

Los valores medios del puntaje otorgado por los jueces a la textura al tacto en las hojas (TXT) de las plantas de lechuga manteca según el método de cultivo utilizado y la zona pueden verse en la Figura 13B. Del análisis de la varianza surge que la interacción entre el método de cultivo y el anillo no fue significativa para el descriptor textura ($p = 0.9183$) y tampoco fue significativo para el factor zona ($p = 0.6414$). Sin embargo, sí fue significativo el factor método de cultivo ($p = 0.0184$) lo que indica una influencia del método de cultivo en toda la planta por igual. Los puntajes asignados por los jueces para la TXT en las plantas provenientes de campo fueron significativamente menores que los puntajes de las plantas provenientes de invernadero. Los valores medios para los puntajes obtenidos fueron 4.69, 4.96 y 4.92 para campo, I.mulch e I.trad, respectivamente.

Las plantas provenientes de campo presentaron una textura más áspera, menor turgencia, mayor flexibilidad de las hojas. Las plantas de I.mulch e I.trad en

cambio, presentaron una textura más turgente y más frágil. Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la lechuga de campo son consistentes con los menores niveles de hidratación de estas plantas (Figura 5) respecto de las provenientes de invernadero.

d. Color y brillo de las hojas

En la Figura 13C se muestran los valores medios correspondientes a los puntajes asignados al color y brillo (CyB) en las hojas de lechuga manteca, según el método de cultivo empleado y la zona dentro de la planta. Para el descriptor CyB, el análisis de la varianza mostró una interacción significativa entre los factores método de cosecha y zona ($p < 0.0001$).

Las plantas de campo presentaron puntajes menores asignados al CyB de las hojas, con diferencias significativas en la zona externa y media, respecto de las correspondientes a las plantas de invernadero. No se encontraron diferencias entre los puntajes asignados a la zona interna para los tres métodos de cultivo, ninguno de los jueces pudo detectar defectos en el color y el brillo. Si bien las hojas pertenecientes a la zona interna son más amarillas (según se expresó al analizar IC en la Tabla 9) los jueces asignaron el puntaje óptimo debido a que es el color esperado de las mismas. Diferente es el caso de la zona externa o media, en las cuales los jueces esperan hojas de color verde, sin tonos amarillentos o manchas.

Tabla 14: Comparaciones de los puntajes medios asignados al descriptor color y brillo (CyB) en las hojas de lechuga manteca al momento de la cosecha para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y ubicación en la hoja (zona). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 4.12 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 4.98 ^{Ab} |
| Media | 4.37 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 4.95 ^{Ab} |
| Interna | 5.00 ^{Ba} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |

Al analizar los descriptores de los parámetros de calidad sensorial se observa que las plantas provenientes de campo presentaron valores menores debido, principalmente al mayor pardeamiento en las hojas, afectando también la percepción del color. La ruptura de las membranas celulares que ocurre cuando los procesos de degradación exceden a los de mantenimiento, como por ejemplo en situaciones de estrés lumínico o térmico (Franck *et al.*, 2007) estaría relacionada con la iniciación del pardeamiento, llevando también al deterioro del color y de la textura al tacto. Cuando la cantidad de especies reactivas de oxígeno (EROs) se incrementa considerablemente o por períodos prolongados, se desencadenan mecanismos metabólicos que pueden llevar a la oxidación de los lípidos integrales de las membranas, produciendo descompartmentalización de la célula que libera las enzimas. Debe tenerse en cuenta para determinar el potencial de estrés oxidativo al que se encuentra sometida la planta, el balance entre la generación de las especies reactivas de oxígeno, la capacidad antioxidante de la hoja y la disponibilidad energética para llevar a cabo los procesos anabólicos de mantenimiento. Este balance podría no ser adecuado en las plantas cultivadas a campo donde debido a la mayor exposición a las condiciones ambientales, se generan las condiciones propicias para la reacción de pardeamiento enzimático.

Sumado a este estrés oxidativo, incrementado debido a las condiciones ambientales, las plantas de campo presentan menor contenido de AA, que las plantas de I.trad (Figura 10). Como ya fue mencionado, la menor cantidad de AA podría ser debido a que ha cumplido con su objetivo de neutralizar las EROs. Sin embargo, es probable que el estrés sostenido al que es sometida una planta en campo no pueda ser contrarrestado por el contenido en AA.

En las plantas de metabolismo normal se producen cierta cantidad de EROs por reacciones autooxidativas. En condiciones normales, estas especies reactivas son neutralizadas por los mecanismos antioxidativos de la hoja. Esto podría ser el motivo por el cual el puntaje para el pardeamiento en hojas obtenido para las plantas de invernadero es casi el óptimo.

D- CONCLUSIÓN

El estudio de calidad inicial en las plantas de lechuga siguiendo el diseño de anillos o de zonas, según corresponda, demostró la variabilidad dentro de la planta de los índices de calidad, permitiendo así determinar el valor potencial de las diferentes regiones para los posibles usos de la planta de lechuga.

- ✓ Las hojas externas, más expuestas a las condiciones ambientales y de mayor edad, presentaron mayor área, mayor contenido de agua relativo (indicando una menor capacidad de retención de agua que las hojas medias e internas), menor luminosidad (menor valor del parámetro **L**) y color más verde según el Índice de Color.
- ✓ Sensorialmente, las hojas externas presentaron calidad inferior con menor puntaje sensorial para color y brillo y mayor para el pardeamiento enzimático en las hojas.
- ✓ Las hojas internas de la planta presentaron menor AL que las externas, pero con diferencias significativas solo entre plantas de invernadero. El contenido en AU fue mayor en las hojas internas, nuevamente estas diferencias fueron significativas sólo para las plantas de invernadero.
- ✓ Las hojas internas, menos desarrolladas, presentaron una reducción del área respecto de las hojas externas del 67 % y respecto de las medias del 42 %.
- ✓ Las hojas internas presentaron más brillo y color más amarillento que las externas, según el valor del parámetro **L*** y el IC. Sin embargo, fueron evaluadas con el máximo puntaje por los jueces ya que corresponden a las características típicas de la zona. El pardeamiento enzimático en las hojas internas fue significativamente mayor en las plantas provenientes de campo.
- ✓ Las hojas medias presentaron valores intermedios para la mayoría de los índices evaluados, lo cual es consistente con la presencia de una zona de transición dentro de la planta.

- ✓ Los recuentos microbiológicos no mostraron una tendencia particular dentro de la planta. Los anillos exteriores en las plantas provenientes del cultivo en invernadero con *mulch* fueron superiores al recuento de los otros anillos. Sin embargo, esta tendencia no se observó en los otros métodos analizados.

Además de la zonificación encontrada dentro de la planta, se han encontrado diferencias en los índices de calidad inicial de lechuga manteca para los diferentes métodos de cultivo estudiados: campo, invernadero *mulch* e invernadero tradicional. En general, las plantas de invernadero presentaron mejores índices de calidad que las plantas provenientes de campo, sin diferencias importantes entre los dos métodos de cultivo bajo cubierta.

- ✓ Las plantas provenientes de campo fueron más pequeñas (7 %) que las de invernadero, con mayor cantidad de hojas pero de menor área. La mayor proporción del peso de las plantas de campo se debe a las hojas de los anillos externos, representando el 44 % respecto del 25 % en las de invernadero.
- ✓ El estado del agua de las plantas de campo al momento de la cosecha fue menor que en las de invernadero, tanto en el CA como en el CRA. Se observó también un incremento en AU y una disminución en AL en las plantas de campo respecto de las provenientes de invernadero. Estos resultados denotan que las plantas provenientes de campo fueron expuestas a situaciones de estrés hídrico. Esto también pudo ser observado en la disminución en la relación agua libre agua total (AL/AT) que llegó a valores cercanos a 0.20, mientras que fue superior a 0.60 para las plantas de invernadero.
- ✓ Las plantas de invernadero mostraron al momento de la cosecha mejor hidratación que las provenientes de campo, indicando una mejor condición hídrica durante su desarrollo.
- ✓ Sensorialmente, las plantas de invernadero presentaron al momento de la cosecha mejor textura, mejor color y menor cantidad de pardeamiento enzimático por lo que presentaron mejor apariencia general.

- ✓ Desde el punto de vista nutricional, las plantas de invernadero tradicional presentaron mejor calidad con un contenido de AA significativamente mayor que los de invernadero *mulch* o campo, especialmente en los anillos externos y medios. El contenido de AA es el único de los índices que presentó una clara diferencia entre las plantas provenientes de invernadero tradicional o *mulch*.

Si bien las plantas de campo y las de invernadero recibieron ambas riego artificial, las plantas de campo están expuestas al viento, lo que genera corrientes convectivas que favorecen la deshidratación superficial de las hojas, resultando en cambios en CRA y en CA. Este estrés ambiental podría ser contrarrestado a través de respuestas fisiológicas de la planta, como lo es aumentar el contenido de AU, disminución del peso total y/o del área de las hojas, disminuyendo así la superficie expuesta para la transferencia.

Los resultados obtenidos en los ensayos sensoriales, que mostraron diferencias en la textura y el color entre las plantas de campo e invernadero, también pueden ser atribuidos a modificaciones debidas a la adaptación frente a la situación de estrés. Las plantas de campo presentaron hojas con una textura más firme y rugosa, con mayor irregularidad en la superficie, lo que podría asociarse al engrosamiento de las paredes celulares con el objetivo de retrasar el movimiento del agua y prevenir posibles marchitamientos por deshidratación. La percepción del color en la lechuga se debe al contenido de clorofila y carotenoides y a la presencia de pardeamiento enzimático. Las situaciones ambientales adversas a las que es expuesta la planta en el campo, potencian la reacción de pardeamiento enzimático y la formación de especies reactivas de oxígeno.

Según los resultados obtenidos, la selección del método de cultivo y/o la zona de la planta a utilizarse debe basarse en el destino que se le dará al producto final. Debido a la diversidad de destinos que puede tener hoy en día una planta de lechuga - planta entera para el mercado fresco o con un período de almacenamiento refrigerado antes de ser comercializada, productos mínimamente procesados, etc. la selección del método de cultivo puede ser considerada una herramienta útil que ayude a obtener productos de mejor calidad inicial, favoreciendo así la rentabilidad y llevando a los consumidores productos con mayor valor nutricional.

III - CAPÍTULO 2: CALIDAD POSTCOSECHA

A – INTRODUCCIÓN

1. Calidad Postcosecha y Vida Útil

Como ya se enunció en el capítulo anterior, la calidad durante el almacenamiento de los vegetales está influenciada por varios factores, tanto precosecha como postcosecha. Las condiciones ambientales previas a la cosecha tienen un efecto directo en la calidad postcosecha y pueden producir importantes cambios en la fisiología y anatomía de la planta (Fonseca, 2006). Algunos de estos cambios han sido identificados y estudiados en el capítulo anterior del presente trabajo con el objeto de determinar la calidad inicial. Es muy probable que si las hojas de las plantas llegan al momento de la cosecha con elevada calidad puedan soportar las rigurosas condiciones durante la cosecha y el procesamiento, característica importante desde el punto de vista comercial (Clarkson *et al.*, 2003)

Si bien existen líneas de investigación dirigidas al mercado creciente de los vegetales orgánicos que han mostrado el efecto de las prácticas precosecha sobre el comportamiento postcosecha (Wießner *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2003; Konstantopoulou *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2010), son pocos los trabajos de investigación que han estudiado de manera combinada los efectos de factores pre y postcosecha sobre la calidad integral postcosecha y vida útil. Son aún menos frecuentes los trabajos que relacionen el uso de invernaderos y/o de cobertura del suelo durante la producción primaria de lechuga manteca con la calidad postcosecha.

El deterioro de los vegetales durante el almacenamiento postcosecha ocurre progresivamente como resultado de cambios físicos y/o químicos propios del vegetal y por la actividad de los microorganismos presentes, y no puede ser evitado, sólo retrasado (Jacxsens *et al.*, 2003). La velocidad a la cual ocurre dicho deterioro depende de la composición del vegetal, la morfología, el estado fisiológico, la hidratación, el grado de procesamiento y las condiciones en las cuales es mantenido durante el almacenamiento y la comercialización. Eventualmente, los efectos acumulativos producidos por los cambios físicos y/o químicos alcanzan un punto en el cual el consumidor rechaza el producto. La mayoría de las veces el rechazo se basa

en la apariencia y ocurre cuando uno o más de los parámetros sensoriales no cumplen con las expectativas del consumidor (McMeekin; Ross, 2002; Allende *et al.*, 2006).

La vida útil de la lechuga puede ser definida como el tiempo durante el cual la misma puede ser mantenida con una apariencia que atraiga a los consumidores (Zhou *et al.*, 2004). Los atributos sensoriales más importantes de la lechuga durante la postcosecha son la textura, el color y la aparición de manchas y pardeamiento en hojas y tallos (Chiesa, 2010). Estos factores son fácilmente percibidos por los consumidores y son tenidos en cuenta a la hora de decidir la compra. Con solo observar la planta es posible evaluar la ausencia o presencia de decoloraciones, pardeamiento enzimático, amarillamiento de las hojas, pérdida de brillo, daños mecánicos y pérdida de turgencia (Jacxsens *et al.*, 2003; Allende *et al.*, 2006) condicionando así la decisión de compra. La textura de los vegetales depende de la estructura y la integridad de la pared celular. El estrés ambiental puede tener efectos importantes sobre el crecimiento, desarrollo y fisiología de la hoja. Una correcta manipulación de estas respuestas al estrés podría ser utilizada para incrementar la adecuación de la hoja al procesamiento postcosecha (Clarkson *et al.*, 2003).

La lechuga es un vegetal compuesto mayoritariamente por agua, por lo que el estado del agua en los tejidos tiene un efecto directo sobre su apariencia (Agüero *et al.*, 2008; Barg *et al.*, 2009). El seguimiento experimental del estado del agua durante el almacenamiento postcosecha de lechuga es fundamental para determinar el grado y la tasa de deterioro del vegetal. Analizar sólo el contenido de agua puede ser insuficiente para estudiar el estado fisiológico del tejido, ya que deben también tenerse en cuenta los movimientos internos del agua que van a modificar la disponibilidad de la misma (Agüero *et al.*, 2008). Sin embargo, el contenido de agua es indicativo de las potenciales pérdidas económicas asociadas a la pérdida de agua en las plantas de lechuga, dado que posteriormente serán vendidas por peso.

Otras mediciones importantes que permiten hacer un seguimiento detallado del estado del agua, asociado a las pérdidas de calidad sensorial son el contenido de agua relativo, el contenido de agua libre y agua unida y la relación existente entre el agua libre y el contenido total de agua (Singh *et al.*, 2006). Agüero *et al.* (2008) informaron que el contenido de agua libre y la relación agua libre/agua total, son los

índices de agua que correlacionan mejor con la calidad sensorial de la lechuga, haciendo posible tener una medida indirecta pero objetiva de la calidad sensorial.

El color en los vegetales es de vital importancia, ya que define la apariencia del mismo e influencia la decisión de compra del consumidor (Ferrante *et al.*, 2004; Conte *et al.*, 2008). La pérdida de color durante el almacenamiento postcosecha se debe a la degradación de los pigmentos y al pardeamiento enzimático de los tejidos (Ferrante; Maggiore, 2007). Estos procesos fisiológicos ocurren cuando las membranas celulares pierden su integridad y liberan enzimas que se ponen en contacto con sus respectivos sustratos (Zhou *et al.*, 2004). También se reconoce el amarillamiento de las hojas de lechuga como un signo de senescencia, producido por el desbalance interno de hormonas, por ejemplo debido a la deficiencia de citosinas (Ferrante *et al.*, 2004; Gergoff *et al.*, 2010). La disminución en el contenido de clorofila en vegetales de hoja ha sido estudiado en varias oportunidades y se ha demostrado su importancia como parámetro visual relacionado a la aceptación (Viña; Chaves, 2003; Ferrante *et al.*, 2004; Agüero *et al.*, 2008).

El pardeamiento enzimático ocurre con frecuencia en la lechuga, y suele ser causa de la pérdida de calidad y del final de la vida útil (Roura *et al.*, 2003; Esparza Rivera *et al.*, 2006; Chisari *et al.*, 2010) causando grandes pérdidas económicas a los productores y a los minoristas. Algunos de los defectos en lechuga durante el almacenamiento postcosecha asociados al pardeamiento enzimático se manifiestan de manera superficial y/o en el borde de las hojas y en los tallos (López-Galvez *et al.*, 1996). El control de la aparición de pardeamiento enzimático desde la cosecha hasta el consumidor es crítico para tener un producto de calidad elevada (Martin-Diana *et al.*, 2005) ya que resulta en pérdidas sensoriales, nutricionales y también funcionales causando en el tejido una disminución de su capacidad antioxidante.

Varios son los factores que afectan la severidad del pardeamiento enzimático en lechuga, empezando por el contenido en compuestos fenólicos y la actividad enzimática del tejido (Heimler *et al.*, 2005), ambos influenciados directamente por las condiciones ambientales a las que ha sido sometida la planta de lechuga durante su desarrollo (Caldwell; Britz, 2006; Franck *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2007, Guerra *et al.*, 2010). El factor más importante durante la postcosecha, relacionado con el pardeamiento enzimático, es el daño mecánico que producen las heridas en los

tejidos. El corte de la planta podría producir una señal que induciría la síntesis de la fenilalanina amonio-liasa (PAL), aumentando la actividad enzimática llevando al incremento del pardeamiento enzimático, comenzando por la base del tallo. Durante la cosecha se realiza el corte en la base de las hojas para separarlas de la planta, esto es suficiente para inducir el incremento de la actividad de la PAL y contribuir a la acumulación de compuestos fenólicos, como respuesta al corte (Tomás-Barberán *et al.*, 1997; Saltveit, 2004).

El pardeamiento enzimático en lechugas ha sido ampliamente estudiado debido a la importancia que tiene sobre la calidad durante el almacenamiento postcosecha (Martínez-Sánchez *et al.*, 2010). Diferentes tratamientos químicos con agentes reductores, inhibidores de la actividad enzimática, acidulantes, etc., han sido estudiados para controlar el proceso metabólico que desencadena el pardeamiento enzimático. Sin embargo, las tendencias actuales han incrementado la desconfianza de los consumidores por el uso de compuestos químicos debido a su toxicidad potencial (Altunkaya; Gökmen, 2008). Por esto, es aún necesario el desarrollo de estrategias que permitan prevenir el pardeamiento enzimático y mantengan la calidad y la confianza del consumidor sin el uso de agentes químicos (Martín-Diana, *et al.*, 2005, Martínez-Sánchez *et al.*, 2010).

Si bien la apariencia general de las hortalizas es el parámetro de mayor impacto en la decisión de compra (Ares *et al.*, 2008a), actualmente se le da importancia al consumo de vegetales por su aporte de nutrientes. Los consumidores esperan alimentos nutritivos, además de apetecibles y seguros sanitariamente (Chiesa, 2010). Por lo tanto, la evolución de la calidad nutricional durante la postcosecha es un área de mucho interés. Las pérdidas postcosecha de calidad nutricional en lechuga manteca, pueden ser importantes y son incrementadas por el daño mecánico, almacenamiento prolongado, temperaturas elevadas, humedades relativas bajas y daño por frío (Kader, 2002).

Tanto los consumidores como los productores se han interesado en la retención de las vitaminas en el alimento, especialmente la vitamina C. Por ser un compuesto extremadamente lábil suele utilizarse como indicador de la severidad del procesamiento y de la adecuación de las condiciones de almacenamiento (Barry-Ryan; O'Beirne, 1999; Özcan *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2010) y para evaluar la frescura

de los vegetales de hoja (Conte *et al.*, 2008). Esto se debe a que comparada con otros nutrientes, la vitamina C es mucho más sensible y se supone que si el ácido ascórbico es retenido durante el procesamiento y almacenamiento, otros nutrientes también lo serán (Özkan *et al.*, 2004). Pérdidas sustanciales de ácido ascórbico durante el almacenamiento pueden ser nutricionalmente importantes para aquellas personas que consumen grandes cantidades de ensaladas de hoja. Sumado a esto, las pérdidas de ácido ascórbico presentan un indicador útil del deterioro oxidativo que sufre el tejido vegetal durante el almacenamiento (Barry-Ryan; O'Beirne, 1999).

El contenido en ácido ascórbico es habitualmente considerado como equivalente al contenido en vitamina C (Barry-Ryan; O'Beirne, 1999). Sin embargo el ácido dehidro-ascórbico posee también actividad de vitamina C, siendo equivalentes en el organismo humano (Nicolle *et al.*, 2004; Altunkaya; Gökmen, 2009; Oh *et al.*, 2009).

Además de la necesidad de ofrecer a los consumidores un producto de buen aspecto y con valor nutricional, es importante brindar un producto que desde el punto de vista sanitario sea inocuo. Sin embargo, los microorganismos siempre están presentes en los vegetales (McKellar *et al.*, 2004). La extensión de la vida útil de la lechuga se encuentra directamente relacionada con el retraso en el desarrollo de las poblaciones microbianas. Además, resulta un riesgo para la salud pública el posible desarrollo de microorganismos patógenos, especialmente debido al pH neutro de la lechuga (comparado con el pH ácido de ciertas frutas) y por ser consumido fresco.

El desarrollo de las diferentes poblaciones microbianas en los alimentos se relaciona con varios factores, entre ellos la disponibilidad de agua, la carga inicial y la composición de la microflora presente (Ponce *et al.*, 2002; Roura *et al.*, 2003). También se relaciona con las diferentes condiciones que puedan llegar a afectar la duración de la fase lag o la tasa de crecimiento (McMeeking; Ross, 1996). Estos factores pueden ser intrínsecos del vegetal (pH, actividad de agua, estructura), extrínsecos (temperatura, composición de la atmósfera, humedad relativa) o implícitos (tasa específica de crecimiento del microorganismo, interacciones entre poblaciones microbianas). Se asume que la proliferación microbiana es la principal causa del fin de la vida útil y esto ha llevado a que un gran número de estrategias de preservación se basen en la reducción del número total de microorganismos. Según Zagory (1999), el

deterioro de los vegetales podría ser la causa del incremento de los recuentos microbianos y no al revés, por lo que todas las operaciones que contribuyen a preservar la integridad de los tejidos y a reducir los procesos metabólicos controlarían también el crecimiento de las poblaciones microbianas.

2. Uso de Tecnologías Postcosecha

La demanda actual de productos frescos de elevada calidad hace necesaria la aplicación de tecnologías postcosecha que permitan extender la vida útil, manteniendo los requerimientos de calidad (Brecht *et al.*, 2003). Las pérdidas postcosecha se inician antes de llegar al mercado minorista, por esto se requiere la implementación de las buenas prácticas de manejo durante todas las etapas de comercialización para disminuir las pérdidas económicas y del valor nutricional del vegetal. Los principales desarrollos tecnológicos se basan en el control de las condiciones de almacenamiento y manipulación luego de la cosecha y en el tipo de envasado a utilizar. La temperatura y la humedad relativa del ambiente donde la lechuga es almacenada, son los factores ambientales más importantes afectando la calidad sensorial de los vegetales de hoja (Zanoni *et al.*, 2007, Nunes, 2008).

Teniendo en cuenta los resultados presentados en el capítulo anterior de este trabajo, la historia precosecha de la lechuga tiene impacto sobre la calidad inicial (al momento de la cosecha). Esto profundiza la importancia de incluir dicha información en la selección de la tecnología postcosecha para optimizar la calidad.

Principalmente, son seis las variables ambientales que pueden controlarse durante el almacenamiento de lechuga: lapso de tiempo, temperatura, humedad relativa, presión parcial de O₂, de CO₂ y de etileno. Las condiciones de almacenamiento consideradas óptimas para cada producto, son diseñadas de modo que estas variables se mantengan dentro de los límites que aseguren la máxima extensión de la vida útil para la mayor proporción de unidades (Salveit, 2003). Otras variables ambientales que pueden influir en la respuesta de la planta durante el almacenamiento son la carga microbiana inicial y la intensidad de luz recibida. Actualmente las condiciones de almacenamiento “óptimas” para un determinado vegetal son seleccionadas mediante el seguimiento de uno o varios indicadores de calidad (color, firmeza, contenido en sólidos solubles, contenido de vitaminas, etc.)

dependiendo del tipo de vegetal y del uso que se desea dar al mismo. Esto lleva asociado un considerable trabajo experimental y hace dificultosa la generalización de las recomendaciones.

La variabilidad biológica asociada a la existencia de diferentes variedades de lechuga, distintos métodos de cultivos y prácticas de manejo, nuevas tecnologías asociadas al almacenamiento, nuevos materiales de empaque, etc. hacen que los rangos “óptimos” recomendados sean cada vez más acotados y sea referidos a situaciones específicas (Salveit, 2003). Debe ser también tenido en cuenta a la hora de seleccionar las condiciones de almacenamiento “óptimas”, la variabilidad existente dentro de una misma planta, debida al tipo de tejido (hoja, tallo, etc.), al desarrollo fisiológico (hoja madura o senescente u hoja joven en pleno desarrollo) y a la posición dentro de la planta lo que genera diferente exposición a las condiciones de almacenamiento.

3. Tecnologías de obstáculos

La aplicación de barreras u obstáculos permite combinar el efecto de más de un método de conservación de manera que juntos actúen potenciando los efectos individuales. En este concepto se basan los últimos desarrollos en tecnología postcosecha para hacer más eficiente el uso de los recursos.

a. Almacenamiento Refrigerado

El factor ambiental más importante es la temperatura ya que la velocidad de deterioro se ve afectada por la misma y debe ser mantenida dentro de los valores recomendados durante toda la cadena de producción y comercialización, para minimizar el deterioro y evitar los daños por frío (Watada, 1996, Salveit, 2004, Esparza Rivera *et al.*, 2006, Moretti *et al.*, 2010). Es sabido que la disminución de la temperatura retarda el metabolismo, incluida la actividad enzimática y el crecimiento microbiano (Jacxsens *et al.*, 2002; Ferrante; Maggiore, 2007). En general, cuanto menor es la temperatura de almacenamiento, mayor es la vida postcosecha, a excepción de las plantas tropicales que pueden sufrir importantes daños por frío a temperaturas menores a los 10 °C (Nunes *et al.*, 2009).

En el caso particular de la lechuga, si la temperatura de almacenamiento es menor a la recomendada, el daño en el tejido se debe al congelamiento, debido a su elevado contenido de agua. La formación de cristales de hielo en el interior de las células produce la rotura de las membranas celulares, liberando el contenido de las células y promoviendo así reacciones indeseables. Ya en 1977, Bolin *et al.* (1977) encontraron que lechuga mínimamente procesada almacenada a 2 °C tenía una vida útil de 26 días, mientras que almacenándola a 10 °C, su vida útil se reducía a 10 días. Las recomendaciones para lechuga entera indican que la temperatura óptima de almacenamiento es 0 – 2 ° C (Kader, 1992).

b. Humedad Relativa

Otro factor importante es la humedad relativa (HR) del ambiente que rodea al vegetal. La humedad relativa ambiente debe ser tal que la lechuga permanezca bien hidratada, para el mantenimiento de la textura y del aspecto fresco durante el almacenamiento. El control de la humedad relativa para prevenir la deshidratación del tejido desde la cosecha hasta la llegada al consumidor es crítico para minimizar la pérdida de agua (Agüero *et al.*, 2008). Si la humedad relativa se mantiene por encima del 95 % se reducen las pérdidas de agua, sin embargo, debe tenerse en cuenta que una humedad relativa dentro del envase cercana al 100% produce condensación de agua que se deposita sobre las hojas, produciendo pérdida de calidad debido a decoloraciones indeseables, pérdida de textura, podredumbres, etc.

La recomendación de Kader (1992) para el almacenamiento de lechuga es del 95-98% de humedad relativa. La deshidratación de la lechuga causa importantes pérdidas económicas, tanto cualitativas debido a la disminución de los índices sensoriales, como cuantitativas (Jones; Tardieu, 1998). Cuando estos requerimientos ambientales no son los correctos se reduce el contenido de agua en el tejido y se producen reajustes internos del agua. El agua de las capas superiores de la hoja se pierde inicialmente, desencadenando la migración de la misma desde el interior hacia la superficie hasta alcanzar el equilibrio con la atmósfera.

c. Envasado en atmósferas modificadas

Debido a la complejidad asociada a los vegetales frescos con tasas respiratorias variables y dependientes de la temperatura y del estadio de desarrollo, las condiciones de almacenamiento óptimas son diferentes para cada producto. Estos hechos conducen a que las consideraciones a tener en cuenta antes de seleccionar la tecnología de envase adecuada sean diversas. Una alternativa que presentó un amplio crecimiento en los últimos años y ha mostrado beneficios es la modificación de la atmósfera de almacenamiento (Farber, *et al.*, 2003).

Una atmósfera modificada es aquella que es creada al alterar la composición normal del aire (78% N₂, 21% O₂, 0.03% CO₂ y trazas de gases nobles) para generar una atmósfera óptima que incremente la duración de la vida útil y mantenga la calidad del producto (Moleyar; Narasimham, 1994; Phillips, 1996; Farber *et al.*, 2003). Esto puede lograrse utilizando almacenamiento en atmósferas controladas (CAS según las siglas en inglés correspondientes a *Controlled Atmosphere Storage*) y/o utilizando el envasado en atmósferas modificadas (MAP según las siglas en inglés de *Modified Atmosphere Packaging*), este último puede ser activo o pasivo. En el CAS, la atmósfera se modifica hasta valores predefinidos y esas condiciones son mantenidas durante todo el período de almacenamiento. En MAP, la atmósfera se modifica sólo inicialmente, permitiendo posteriormente que evolucione. La selección de la composición de la atmósfera debe realizarse para cada tipo de vegetal, y no será la misma atmósfera si el vegetal se encuentra entero o si está procesado. Para la lechuga cortada, las recomendaciones indican que el contenido en O₂ dentro del envase se mantenga entre 1-8% combinado con 10-20% CO₂ (Escalona *et al.*, 2006) y para lechuga entera las recomendaciones indican un contenido de O₂ cercano al 5% y contenido en CO₂ que no supere el 10% (Kader, 1992).

En la modificación activa se realiza el desplazamiento de los gases en el interior del envase con una mezcla de gases deseada, mientras que en la pasiva la modificación ocurre cuando el producto es almacenado en un envase fabricado con un determinado material polimérico y la atmósfera deseada se obtiene naturalmente como consecuencia de la respiración del producto y la difusión de los gases a través del film de permeabilidad selectiva (Moleyar; Narasimham, 1994; Farber *et al.*, 2003; Ares *et al.*, 2008b).

En la atmósfera modificada pasiva, la composición de gases dentro del envase se modifica como resultado de la respiración del vegetal, reduciendo el contenido en O_2 y acumulando CO_2 . Este concepto es la base de las atmósferas modificadas pasivas. Los niveles de O_2 y CO_2 alcanzados dependen fundamentalmente de la temperatura de almacenamiento, de la permeabilidad del material, del tamaño del espacio de cabeza del envase y del estado fisiológico del tejido, entre otros. La composición de la atmósfera dentro del envase alcanza el estado estacionario alrededor del tercer o cuarto día (Martínez; Artés, 1999) lo que representaría una desventaja ya que las cinéticas de deterioro son mayores en las primeras horas de la postcosecha (Zanoni *et al.*, 2007). En el envasado en atmósfera pasiva, es difícil alcanzar los niveles requeridos de O_2 y CO_2 rápidamente, lo que es importante a la hora de mantener la calidad en la lechuga. Por ello, la modificación activa de la atmósfera representaría una ventaja.

El diseño del envasado en atmósferas modificadas involucra la selección cuidadosa del material polimérico, del tipo de envase y del tamaño para cada producto en particular. La permeabilidad al O_2 y al CO_2 y la velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR según las siglas en inglés de *Water Vapor Transmission Rate*) son los factores más importantes a la hora de seleccionar el material para el envasado en atmósferas modificadas. Estas permeabilidades son los factores determinantes de la composición de gases y de la humedad dentro del envase, influyendo directamente sobre la velocidad de deterioro del producto (Martínez *et al.*, 2008).

Los gases comúnmente utilizados en el MAP son O_2 , N_2 y CO_2 . Otros gases tales como SO_2 , O_3 y CO han sido estudiados, sin embargo, por razones de seguridad, regulaciones y costos aun no han sido aplicados comercialmente (Farber *et al.*, 2003). La reducción del O_2 de la atmósfera dentro del envase reduciría la velocidad de respiración, retrasaría la degradación oxidativa y disminuiría la producción de etileno. Las principales funciones del N_2 en el MAP son las de desplazar al O_2 , retardar el crecimiento de microorganismos aeróbicos deteriorantes y actuar como relleno para mantener la conformación del envase (Farber *et al.*, 2003). El CO_2 es el único de los tres gases con actividad antimicrobiana directa. Ha sido sugerido que el CO_2 contribuye a prolongar la fase Lag de los microorganismos (Phillips, 1996). Sin embargo, la acción inhibitoria del CO_2 puede tener efectos diferentes sobre los microorganismos. Mientras que las bacterias aeróbicas como las *Pseudomonas* son

inhibidas por niveles moderados de CO₂ (10-20%), las bacterias ácido lácticas pueden ser estimuladas a esos niveles (Farber *et al.*, 2003). Además, microorganismos patógenos como el *Clostridium botulinum*, el *Clostridium perfringens* o *Listeria monocytogenes*, son sólo mínimamente afectados por niveles de CO₂ menores al 50%, generando un riesgo sanitario (Farber *et al.*, 2003).

Los efectos del uso de atmósferas modificadas en la extensión de la vida útil, el retraso de la senescencia y la reducción de la ocurrencia de desórdenes fisiológicos han sido estudiados en repetidas oportunidades (Martínez; Artés, 1999; Jacxsens *et al.*, 2001; Brecht *et al.*, 2003; Saltveit *et al.*, 2003; Allende *et al.*, 2004b; Oms-Oliu *et al.*, 2008, An *et al.*, 2009). Muchos trabajos referidos a la calidad microbiológica de vegetales almacenados en atmósferas modificadas ya han sido publicados, sin embargo la mayoría de ellos se refieren a vegetales mínimamente procesados (Jacxsens *et al.*, 2001, Farber *et al.*, 2003, Jacxsens *et al.*, 2003, Allende *et al.*, 2004b; Hodges; Toivonen, 2008) o a muestras tomadas en el punto de venta minorista sin conocimiento de la historia previa del vegetal (Jamie; Saltveit, 2002, McKellar *et al.*, 2004).

Dado que los vegetales frescos son tejidos metabólicamente activos aún después de la cosecha, cuando se envasan en bolsas plásticas con baja permeabilidad a los gases, se produce un descenso en la concentración de O₂ y un incremento del CO₂ en el espacio de cabeza como consecuencia de la respiración tisular (Pirovani *et al.*, 1998; Allende *et al.*, 2004b). Es importante evitar la disminución excesiva del O₂ ya que puede desencadenar una serie de mecanismos fisiológicos indeseables, como la respiración anaeróbica, lo que constituye un riesgo para la salud por el desarrollo de un ambiente de anaerobiosis (Oms-Oliu *et al.*, 2008). La respiración anaeróbica lleva a la producción de etanol, acetaldehído, CO₂ y otros compuestos químicos responsables de sabores indeseables y decoloraciones, para evitar esto, el porcentaje de O₂ dentro del envase debe ser siempre superior al 1% (Allende *et al.*, 2004a).

Los efectos del CO₂ elevado pueden ser variables según la especie. De todas maneras, se lo considera responsable de varios desórdenes fisiológicos que provocan defectos visibles, tales como pardeamientos y decoloraciones indeseables (Allende *et al.*, 2004a). Escalona *et al.* (2006) encontraron que el cociente respiratorio (relación

entre el CO₂ producido y el O₂ consumido durante la respiración) de la lechuga manteca mínimamente procesada expuesta a una atmósfera reducida en O₂ (0-10 kPa O₂) aumentó por encima de 1 debido a la fermentación, mientras que si la atmósfera es aire (20 kPa O₂) el cociente respiratorio es menor a 1.

Sin embargo, el incremento de la concentración de CO₂ dentro del envase ha sido relacionado con la aparición de manchas en las hojas y con el crecimiento de microorganismos potencialmente peligrosos para la salud. El envasado en atmósferas modificadas genera dentro del envase niveles elevados de CO₂ y reducidos en O₂, generando un riesgo potencial ya que los microorganismos aerobios deteriorantes, que por lo general advierten a los consumidores que el vegetal no es fresco, son inhibidos. Además el riesgo es mayor debido a que estas mismas condiciones permiten el desarrollo de microorganismos que toleran las bajas concentraciones de O₂ (bacterias ácido lácticas) y algunos patógenos, tal como *Listeria monocytogenes* (Allende *et al.*, 2004a).

Otra ventaja asociada al uso de atmósferas modificadas es que permite incrementar la vida útil de productos sensibles al frío mediante la combinación de obstáculos (Oms-Oliu *et al.*, 2008). El uso de atmósferas controladas puede ser beneficioso para el mantenimiento de la calidad de los vegetales durante el almacenamiento postcosecha (Watada, 1997) y cuando se usan en combinación con almacenamiento refrigerado pueden producir reducciones sustanciales en el crecimiento microbiano y en los cambios fisiológicos y químicos que disminuyen la calidad de los vegetales de hoja. Muchos estudios han informado recuentos de microorganismos en vegetales envasados en atmósferas modificadas, sin embargo la gran mayoría de ellos comienza el análisis al nivel del mercado (Jacxsens *et al.*, 2003; Allende *et al.*, 2004a; Abadías *et al.*, 2008), o inoculando en el laboratorio (Allende *et al.* 2004a).

Existen varios polímeros potencialmente útiles para el envasado de vegetales en atmósferas modificadas, sin embargo, los mismos deben ser cuidadosamente seleccionados en relación al vegetal y optimizados para cada caso particular. Los materiales más tradicionales son polietileno de baja densidad (PEBD), policloruro de vinilo (PVC) o polipropileno (PP). Son muy utilizados por su bajo costo y amplia disponibilidad, sin embargo, ofrecen un rango limitado de permeabilidades a los gases

lo que limita su aplicación generalizada (Farber *et al.*, 2003). También se han desarrollado otros polímeros de materiales especiales, que se adaptan a los requerimientos específicos de varios vegetales, muchos de ellos bajo patente de empresas privadas. Estos polímeros de diseño suelen ser multilaminados (compuestos por varias capas de diferentes materiales) o con aditivos especiales.

La introducción de nuevas variedades de lechuga y los cambiantes requisitos del mercado, hace casi imposible poder dar una definición universal de calidad. Se considera, sin embargo, que la planta debe estar libre de defectos físicos visibles y de enfermedades. Pero aun esto puede no ser cierto en todos los casos, ya que para ciertas personas, la presencia de leves defectos en las hojas de lechuga sería un indicativo de que ha sido producida de manera orgánica y la considera libre de pesticidas y demás compuestos químicos. Teniendo esto en vista, la definición de las condiciones “óptimas” de almacenamiento puede ser modificada por las condiciones de almacenamiento “económicamente viables” (Saltveit, 2003). Muchas veces el incremento de los costos de producción, en relación al incremento en la calidad del producto obtenido, puede no ser aceptado por los consumidores. Esto lleva a la necesidad de redefinir las condiciones de almacenamiento de modo que se adapten al plan económico de la empresa y que maximice las ganancias del proveedor. Tradicionalmente la lechuga como materia prima no tiene un gran valor agregado, pero un marketing apropiado del producto, resaltando sus propiedades nutricionales, puede llegar a incrementar el mismo. En este caso, el costo asociado a la modificación de la atmósfera podría ser justificado si el producto obtenido permite ser diferenciado del tradicional sin envasar por sus características sensoriales o nutricionales, o debido a un incremento significativo de la vida útil.

La extensión de la vida útil de los productos envasados en atmósfera modificada y su mejor presentación sobre los mostradores de los negocios, obviamente tiene un mayor valor asociado. La incidencia de los costos de la operación total para el acondicionamiento de estos productos es mayor respecto al envasado tradicional. El valor agregado se debe, principalmente al costo del gas que constituye la atmósfera; el precio del material de envasado ya que requiere materiales especialmente diseñados en función a sus características de barrera; los controles que deben efectuarse sobre la composición de la atmósfera y sobre el aire residual; las

máquinas y la línea de envasado requieren mayor tecnología y operarios más capacitados que en las tradicionales.

Es conocido que el procesado de la lechuga, por más mínimo que sea, acelera el deterioro fisiológico, incrementa la velocidad de las reacciones bioquímicas y favorece el crecimiento microbiano (Allende *et al.*, 2006). En el presente trabajo, las plantas fueron cosechadas y procesadas directamente, sin demoras ni intermediarios y se evaluó la calidad total de la lechuga (microbiol, sensorial y nutricional). Además se propuso el envasado de la planta entera, sin ninguna operación previa de procesado, lo que disminuiría los requerimientos de mano de obra y los daños mecánicos a los que la planta podría ser sometida.

El objetivo fundamental de este capítulo fue identificar el efecto que tendrán el método de cultivo y el tipo de atmósfera de envasado utilizado durante el almacenamiento sobre la calidad y la vida útil de lechuga manteca. Con este enfoque se integra el manejo precosecha, mediante los diferentes métodos de cultivo, al manejo postcosecha con el objeto de obtener una visión global. También es un objetivo de este capítulo, evaluar si en las condiciones planteadas (temperatura óptima), el uso de atmósferas activas resulta beneficioso desde el punto de vista de la calidad sensorial, nutricional y de sanidad, respecto del uso de atmósferas pasivas.

B – MATERIALES Y MÉTODOS

1. Preparación de las unidades experimentales

Según lo explicado en el capítulo anterior, las plantas de lechuga fueron cosechadas manualmente, colocadas en bolsas plásticas y trasladadas refrigeradas, en menos de una hora hasta el laboratorio. Una vez allí, las plantas fueron rotuladas según el método de cultivo utilizado para su producción y almacenadas en una cámara refrigerada (7 °C) mientras se analizó la calidad al momento de la cosecha. Las plantas destinadas al ensayo de almacenamiento fueron retiradas de la cámara y asignadas aleatoriamente a uno de los tipos de envasado: atmósfera modificada pasiva (pasiva), atmósfera modificada activa (activa) y atmósfera control de aire (control).

Para el envasado en atmósfera modificada, tanto pasiva como activa, las plantas fueron envasadas individualmente en bolsas de material polimérico PD-960 (CRYOVAC, Argentina) de permeabilidad a los gases conocida. Las permeabilidades del material al vapor de agua, O₂ y CO₂ fueron suministradas por el fabricante (Anexo I). La permeabilidad al O₂ (PO₂) y al CO₂ (PCO₂) corresponde a 6000 - 8000 cm³/m²día (23 °C, 1 atm) y 19000-22000 cm³/m²día (23 °C, 1 atm), respectivamente. La velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) del material es 1500 g/m²día (23 °C, 100 % HR). Este material cumple con la relación de permeabilidades recomendada para vegetales de hoja $P_{CO_2}/P_{O_2} \approx 3$ (Kader, 1992).

Para aquellas plantas destinadas al MAP pasivo, las bolsas fueron termoselladas sin modificar la composición de gases dentro del envase respecto de la atmosférica. En cambio, en las plantas destinadas al MAP activo, al momento de termosellar la bolsa, se eliminó el aire mediante un vacío parcial y se lo reemplazó por una mezcla de gases compuesta por 2 % O₂, 10 % CO₂ y el balance con N₂. Debido a la eficiencia de la extracción del aire, la composición de O₂ en la bolsa al momento de cerrarla fue de 4.5 %, medida con un analizador de O₂ (PAK01P, Abiss, Francia). Se utilizó para el reemplazo de los gases, una cerradora de vacío con intercambio de gases MINIMAX 430M (SERVIVAC, Argentina) de campana.

Para el envasado en atmósfera control, las plantas de lechuga fueron envasadas individualmente en bolsas de polietileno de baja densidad (PEBD) con un espesor de 40 micrones (Beniplast, Mar del Plata, Argentina). El objetivo de este envasado fue que exista el libre intercambio de gases entre el interior del envase y el exterior, reduciendo así la modificación de la atmósfera. Sin embargo, es necesario que se mantenga constante la humedad relativa dentro del envase para que no sea una nueva fuente de variabilidad. Por ello se decidió utilizar como material el PEBD ya que su elevada permeabilidad al O₂ y al CO₂ cumplen con el requisito de no generar una modificación importante en el interior del envase, pero a su vez actúa como barrera a la difusión del vapor de agua, garantizando así que los niveles de humedad dentro del envase sean similares a los de atmósfera controlada.

La capacidad volumétrica de los envases es la misma para los tres tipos de atmósfera. Las dimensiones de las bolsas, tanto de PD960 como de PEBD fueron 350 mm de base y 500 mm de alto. El espacio de cabeza en las bolsas se mantuvo aproximadamente igual a $3 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ para todos los envases.

Una vez envasadas, las plantas fueron rotuladas y colocadas en la cámara refrigerada a 0 – 2 °C, temperatura considerada óptima para el almacenamiento de lechuga (Kadder, 1992), por el término de 14 días. Se retiraron 3 muestras de cada uno de los tratamientos a los 4, 7, 10 y 14 días posteriores al envasado para seguir la evolución de los índices de calidad. Cada planta se dividió en tres zonas: externa, media e interna; según la ubicación de las hojas en la planta.

2. Determinaciones de calidad durante el almacenamiento refrigerado en atmósfera modificada

a. Evolución de la atmósfera en el espacio de cabeza

El seguimiento de la evolución de la atmósfera dentro del envase se realizó midiendo el porcentaje de O₂ (%O₂) dentro del mismo en cada uno de los puntos de muestreo con un analizador de O₂ (PAK01P, Abiss, Francia). El %O₂ fue medido en todos los envases utilizados en las determinaciones de calidad.

La evolución del %O₂ en los envases se expresó también como %O₂ consumido/100 g TF. Se calculó según la Ecuación 7, donde %O_{2t} corresponde al %O₂ al tiempo de muestreo t, %O_{2i} corresponde a 21 % para los envases con atmósfera control y pasiva y 4.5 % para los envases con atmósfera activa (%O₂ inicial) y *m* representa el peso de la planta en el envase (en g).

$$\text{Ec. 7 } \%O_2\text{consumido} = \frac{(\%O_{2i} - \%O_{2t})}{m} \cdot 100$$

b. Pérdida de peso

Al momento de envasar las plantas fueron pesadas, según lo descrito en el capítulo anterior. Posteriormente, en cada uno de los puntos de muestreo durante el almacenamiento, las plantas se pesaron nuevamente, determinándose por diferencia la pérdida de peso y expresando esa diferencia como porcentaje del peso inicial. La pérdida de peso fue calculada en todas las plantas utilizadas en las determinaciones de calidad.

c. Estado del agua

La evolución del estado de agua en las plantas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado se realizó siguiendo la misma metodología propuesta para el momento de la cosecha. Los mismos índices de agua fueron medidos (CRA, CA, AL, AU y AL/AT) a los 4, 7, 10 y 14 días posteriores a la cosecha. Para cada tratamiento y cada punto de muestreo se utilizaron 3 plantas. Para las determinaciones del estado de agua se utilizaron todas las hojas. El valor correspondiente a cada zona, se obtiene de promediar el resultado obtenido para cada una de las hojas que la componen.

d. Color

Los parámetros **L***, **a*** y **b*** se midieron según lo descrito para el momento de la cosecha y fueron utilizados para expresar el índice de color (IC), de igual manera que en el capítulo anterior, excepto que la planta se dividió en zonas (externa, media e interna) y no en anillos. Se utilizaron 3 plantas para las determinaciones de color en cada tratamiento y cada punto de muestreo. De cada una de las plantas se

seleccionaron al azar 3 hojas de cada zona y los parámetros L^* , a^* y b^* fueron medidos en 3 lugares de cada hoja. Los valores informados corresponden al promedio obtenido para cada zona a partir de las 3 hojas seleccionadas por planta.

e. Contenido de clorofila

El contenido en clorofila (CLO) en cada zona fue determinado siguiendo la metodología descrita por Moreira *et al.* (2003). Las hojas de cada zona fueron separadas y de cada una se tomaron dos muestras de 1 g cada una. Luego, cada muestra fue homogeneizada con 19 mL de una solución fría de propanona:hidróxido de amonio en una proporción 18:1 (0.1 N) utilizando un homogeneizador de tejidos (Minipimer, BROWN 400 W, Argentina). El homogenato obtenido fue filtrado a través de un filtro de lecho poroso, separando el extracto de propanona del residuo vegetal. El agua del extracto fue removida por el agregado de Na_2SO_4 anhidro.

En el sobrenadante se midió la absorbancia a 660.0 y 642.5 nm con un espectrofotómetro UV-visible (UV 1601 PC, Shimadzu, Japón). El contenido de clorofila se calculó aplicando la ecuación 8 donde CLO se expresa como mg de clorofila total en 100 g de tejido fresco (mg CLO/ 100 g TF) y A_{660} y $A_{642.5}$ son los correspondientes valores medidos de absorbancia (AOAC, 2005).

$$(Ec\ 8)\ CLO = 7.12A_{660} + 16.8A_{642.5}$$

Los valores de CLO informados corresponden a la media de 3 repeticiones realizadas por duplicado.

f. Contenido de ácido ascórbico reducido

La técnica utilizada para la determinación del ácido ascórbico (AA) durante el almacenamiento fue la misma que se utilizó para el momento de la cosecha, dividiendo la planta en tres zonas, descrita en el capítulo anterior. Los contenidos de ácidos ascórbico informados corresponden a la media de 3 repeticiones realizadas por duplicado, expresando el resultado final como mg de ácido ascórbico en 100 g de tejido fresco (mg AA/ 100 g TF) y como retención de AA mediante la relación entre el

contenido de ácido ascórbico al tiempo t y el contenido de ácido ascórbico al momento de la cosecha (AA/AA_{inicial}).

g. Recuentos microbiológicos

Durante el almacenamiento refrigerado se siguió la evolución de los recuentos microbiológicos de:

- bacterias aerófilas mesófilas totales (BAMT)
- bacterias microaerófilas mesófilas (BMM)
- bacterias microaerófilas psicrófilas (BMP)

Los recuentos de BAMT se realizaron siguiendo la misma metodología propuesta para el momento de la cosecha. Los recuentos informados corresponden a la media de 3 repeticiones realizadas por duplicado. Los medios de cultivo utilizados son Britania (Buenos Aires, Argentina).

Las mismas técnicas fueron utilizadas para obtener los recuentos de bacterias microaerófilas respecto a los medios de cultivo, tiempo y temperatura de incubación. La diferencia radicó en que la siembra del inóculo se realizó en profundidad (colocando el inóculo en la placa y posteriormente el medio de cultivo) incubando en condiciones de microaerobiosis (presión de O_2 menor a la ambiental) para simular las condiciones dentro de los envases con atmósfera modificada. La incubación de las BMMs se realizó en una estufa de vacío E5831 (NAPCO, Buenos Aires, Argentina) y la correspondiente a las BMPs se realizó en un desecador de 5 L, del cual se extrajo el aire mediante una bomba de vacío D79112 (KNF Neuberger, Trenton, USA) y se mantuvo cerrado herméticamente durante los 7 días de incubación, a la temperatura de refrigeración comercial ($5 - 7\text{ }^\circ\text{C}$).

h. Análisis Sensorial

Los índices de calidad analizados durante el almacenamiento fueron los mismos que al momento de la cosecha, utilizando los mismos descriptores. Los jueces determinaron los índices de calidad para cada tiempo y cada tratamiento, a partir de 2 plantas. Cada planta fue observada en su totalidad y luego separada respetando la

zona a la que cada hoja correspondía. Cada juez observó al menos 3 hojas de cada zona otorgando un puntaje al *pool* de hojas correspondiente a cada zona. Los puntajes informados corresponden a la media de 3 repeticiones realizadas por duplicado.

3. Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó mediante el procedimiento PROC GLM (*General Lineal Model*) y los supuestos de normalidad fueron verificados con el PROC UNIVARIATE, ambos del programa SAS versión 9.0 (SAS Inc. 2002) al igual que en el capítulo anterior. Los factores utilizados como fuente de variación fueron: el método de cultivo (**prec**: campo, invernadero tradicional e invernadero *mulch*), el tipo de atmósfera de envasado (**postc**: activa, pasiva y control), la **zona** (externa, media e interna) y el **día** de almacenamiento (0, 4, 7, 10 y 14).

En todos los casos fueron evaluadas las interacciones entre los factores. En los casos en los que la interacción cuádruple fue significativa, para facilitar la interpretación de los resultados, el factor atmósfera de envasado fue eliminado, repitiéndose el análisis para los tres factores restantes dentro de cada tipo de atmósfera individualmente.

Cuando se encontraron diferencias significativas mediante el análisis de la varianza se usó el *test* de Tukey-Kramer para las comparaciones múltiples entre las medias, considerando significativas las diferencias cuando $p < 0.05$ (Kuehl, 2001).

La evolución en el tiempo de los índices de calidad se analizó mediante una regresión lineal, en la que la variable regresora cuantitativa fue el día, agrupando los datos en tres grupos según el método de cultivo utilizado en la producción primaria. Las regresiones se realizaron en función a los resultados obtenidos del análisis de la varianza y utilizando las estimaciones de las medias para cada interacción (doble o triple según corresponda).

Para comparar los parámetros obtenidos en el modelo teniendo en cuenta que el método de cultivo es una variable clasificatoria, se definieron dos variables auxiliares o *DUMMY* (Montgomery *et al.*, 2002) y se analizó el paralelismo y la

coincidencia de las funciones lineales resultantes, utilizando la función regresión lineal de InfoStat (2004). Para tal efecto, las variables DUMMY definidas fueron:

- $Z_1=1$ y $Z_2=0$ representa el método de cultivo *mulch*,
- $Z_1=0$ y $Z_2=1$ representa las plantas provenientes de tierra
- $Z_1=0$ y $Z_2=0$ corresponde a las plantas de campo.

El modelo completo utilizado fue:

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 Z_1 + \beta_2 Z_2 + \beta_3 (dia) + \beta_4 Z_1 (día) + \beta_5 Z_2 (día) + \varepsilon_{ij}$$

Donde según corresponda a cada método de cultivo, el modelo se transformó en:

Campo ($Z_1 = 0$ y $Z_2 = 0$) $y_{ij} = \beta_0 + \beta_3 (dia) + \varepsilon_{ij}$

I.mulch ($Z_1 = 1$ y $Z_2 = 0$) $y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 + (\beta_3 + \beta_4) día + \varepsilon_{ij}$

I.trad ($Z_1 = 0$ y $Z_2 = 1$) $y_{ij} = \beta_0 + \beta_2 + (\beta_3 + \beta_5) día + \varepsilon_{ij}$

En función a la significancia de los parámetros β_i se determinó el modelo más representativo. En todos los casos se consideró como significativo un coeficiente si $p < 0.05$ y se realizaron contrastes entre los coeficientes, también considerando las diferencias como significativas cuando $p < 0.05$.

C – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Evolución de la atmósfera dentro del envase

En la Figura 14 se presentan los perfiles obtenidos para la evolución del %O₂ en el espacio de cabeza, para cada tipo de atmósfera de envasado en plantas de lechuga cultivadas a campo, *I.mulch* o *I.trad.* En ninguno de los tipos de atmósfera utilizados el %O₂ disminuyó por debajo de 2 % durante almacenamiento, asegurando así la ausencia de respiración anaeróbica. La interacción triple entre los factores estudiados resultó no significativa ($p = 0.9133$) y sí fueron significativas las interacciones dobles.

Los resultados del análisis de la interacción entre el factor día y el tipo de atmósfera ($p < 0.0001$) se presentan en la Tabla 15. Inmediatamente después del cierre, en los envases con atmósfera modificada activa el %O₂ fue 4.5 %. Durante el almacenamiento posterior se observó un incremento del %O₂ dentro del envase, sin alcanzar un equilibrio al menos durante los 14 días evaluados. Este incremento en el %O₂ podría deberse a que la diferencia entre la presión parcial de O₂ dentro del envase (< 12 kPa) y la presión parcial fuera del envase (21 kPa) actuaría como fuerza impulsora para la transferencia de O₂ desde el exterior del envase al interior. La permeabilidad del material PD960, aún siendo reducida respecto del PEBD, no es completa y permitiría la transferencia de O₂, generando un flujo neto de O₂ hacia el interior del envase ya que la respiración de la planta a la temperatura de almacenamiento ensayada (0 – 2 °C) no llega a consumir todo el O₂ que ingresa. Resultados similares fueron presentados por Ares *et al.* (2008b) para hojas de lechuga manteca almacenadas a 5 y 10 °C.

Tanto en los envases con atmósfera modificada pasiva como en los envases con atmósfera control en la primera fecha de muestreo (día 4) se observó una disminución significativa en la concentración de O₂ (Tabla 15) respecto del día 0. Durante el almacenamiento, la evolución del %O₂ para ambos envases fue diferente. En los envases con atmósfera control no hubo variación significativa en el %O₂ a partir del día 4 y hasta el final del almacenamiento. Sin embargo, en los envases con atmósfera pasiva el %O₂ continuó disminuyendo, logrando el equilibrio a partir del día 10 de almacenamiento.

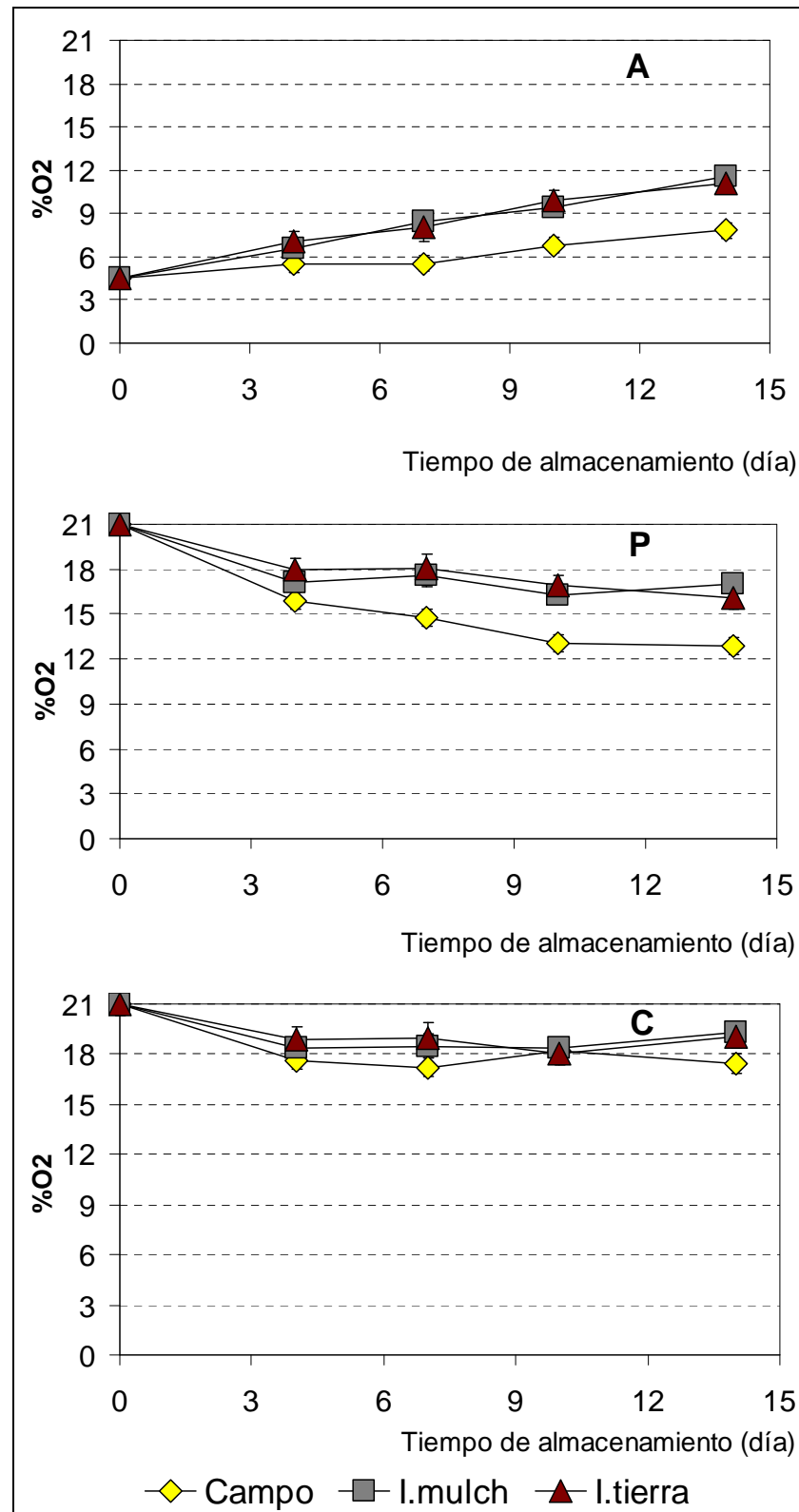


Figura 14: Evolución del porcentaje de O₂ (%O₂) en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Los resultados del análisis de la interacción entre los factores día y método de cultivo ($p = 0.0004$) se presentan en la Tabla 16. Para los tres tipos de atmósfera utilizadas se encontró que a partir del día 7 en las plantas de campo, el %O₂ fue significativamente menor al de los envases con plantas de invernadero y continuó descendiendo hasta el día 14, alcanzando en ese momento una disminución respecto del valor inicial del 39 %. La reducción del %O₂ en las plantas provenientes de invernadero fue menor, alcanzando al final del almacenamiento una reducción de 25 %. Las plantas provenientes de invernadero presentaron %O₂ similares, sin diferencias significativas entre sí a lo largo del almacenamiento. Al día 7 de almacenamiento, el contenido de O₂ en los envases con plantas de invernadero fue 19 % mayor que el contenido en O₂ de los envases con plantas de campo, manteniéndose esta diferencia hasta el día 14 de almacenamiento.

Tabla 15: Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción día y tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Tipo de atmósfera | Activa | Pasiva | Control |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 4.50 ^{Aa} | 21.00 ^{Ab} | 21.00 ^{Ab} |
| 4 | 6.40 ^{Ba} | 17.00 ^{Bb} | 18.31 ^{Bb} |
| 7 | 7.33 ^{BCa} | 16.80 ^{BCb} | 18.22 ^{Bb} |
| 10 | 8.71 ^{CDa} | 15.39 ^{Cb} | 18.20 ^{Bc} |
| 14 | 10.15 ^{Da} | 15.30 ^{Cb} | 18.61 ^{Bc} |

Los resultados del análisis de la interacción entre los factores tipo de atmósfera y el método de cultivo ($p = 0.0268$) se presentan en la Tabla 17. Las plantas obtenidas en campo, independientemente del día de almacenamiento, presentaron siempre menor %O₂ en los envases con atmósfera modificada (activa y pasiva) respecto de las de invernadero. Sin embargo cuando se utilizaron envases con atmósfera control, no se encontraron diferencias significativas en el %O₂ correspondiente a los diferentes métodos de cultivo, resultado que confirma lo esperado dada la elevada permeabilidad del material utilizado al O₂.

Tabla 16: Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 15.50 ^{Aa} | 15.50 ^{Aa} | 15.50 ^{Aa} |
| 4 | 13.02 ^{Ba} | 14.02 ^{Aa} | 14.67 ^{Aa} |
| 7 | 12.51 ^{Ba} | 14.83 ^{Ab} | 15.02 ^{Ab} |
| 10 | 12.67 ^{Ba} | 14.69 ^{Ab} | 14.95 ^{Ab} |
| 14 | 12.70 ^{Ba} | 15.95 ^{Ab} | 15.40 ^{Ab} |

Tabla 17: Comparaciones de las medias del %O₂ en el espacio de cabeza de envases con lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Tipo de atmósfera | | | |
| Activa | 6.04 ^{Aa} | 8.10 ^{Ab} | 8.12 ^{Ab} |
| Pasiva | 15.51 ^{Ba} | 17.78 ^{Bb} | 18.00 ^{Bb} |
| Control | 18.30 ^{Ca} | 19.11 ^{Ca} | 19.20 ^{Ba} |

El hecho de que, a lo largo de todo el almacenamiento, en las plantas provenientes de campo el %O₂ sea significativamente menor que el correspondiente a los envases con lechugas provenientes de invernadero, indicaría una tasa respiratoria más elevada. Esto puede verse si se expresan los resultados como consumo de O₂. El consumo de O₂ de las plantas de lechuga, expresado en relación a 100 g de tejido fresco, puede verse en la Figura 15 para cada tipo de atmósfera y método de cultivo estudiados. Dado que se mantuvieron constantes las variables involucradas (área, relación masa/espacio de cabeza, permeabilidad, temperatura y humedad relativa del ambiente refrigerado, etc.) dejando solo como variable la velocidad de respiración del tejido vegetal, se puede inferir que el consumo de O₂ en los envases se relaciona directamente con la velocidad de respiración de las plantas de lechuga. Esto permitió a su vez obtener una medida relativa de la actividad metabólica de las plantas.

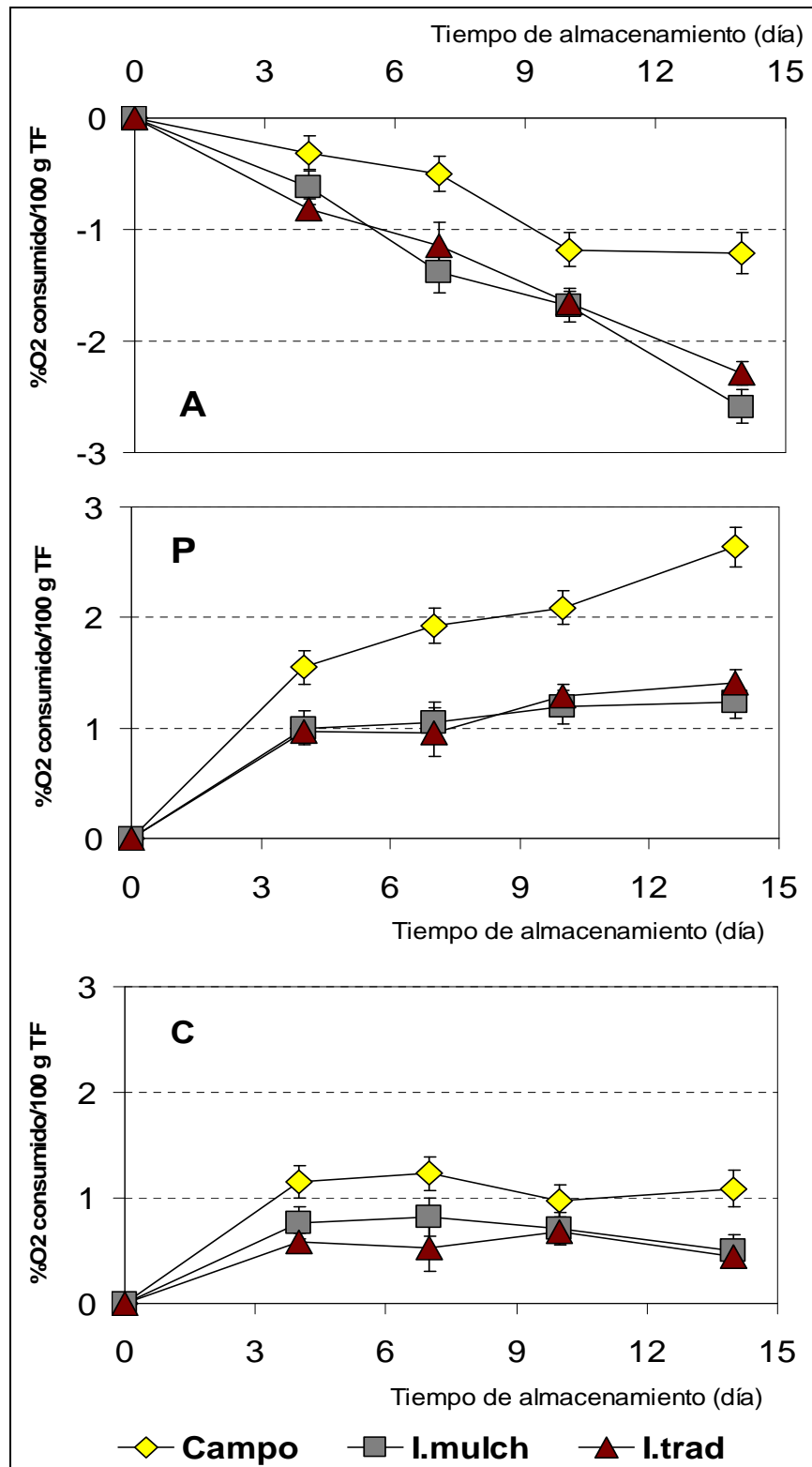


Figura 15: Evolución del consumo de O₂ (%O₂) de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Las plantas provenientes de invernadero mostraron un comportamiento similar entre sí a lo largo de todo el almacenamiento, pero significativamente diferente al consumo de las plantas provenientes de campo, indicando una mayor actividad metabólica de estas últimas, en todos los tipos de atmósfera utilizados. Este factor puede resultar de importancia a la hora de determinar el destino de las plantas teniendo en cuenta el método de cultivo utilizado para su obtención ya que, la mayor actividad metabólica (respiración elevada) podría llegar a condicionar la calidad de la planta durante la postcosecha, acelerando el proceso de senescencia y deterioro, acortando así la vida útil del producto. Si el objetivo del productor es llegar a mercados alejados o conservar el producto por períodos prolongados, la selección del tipo de atmósfera debe ser complementada con la selección del método de cultivo que permita obtener un producto menos activo metabólicamente.

El ajuste lineal del consumo de O_2 en los tres tipos de atmósfera se muestra en la Figura 16. En los envases con atmósfera activa y pasiva, la estimación de los parámetros indicó una regresión significativa respecto del día ($p < 0.0001$ en ambos) con un modelo lineal sin ordenada al origen. Por el contrario, en los envases con atmósfera control, el día no fue significativo como regresor ($p = 0.4505$). Aun cuando no se detectó una pendiente significativa (el consumo de O_2 se consideró constante a lo largo del almacenamiento) sí se observó una diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre el valor hallado en las plantas provenientes de campo ($1.08 \%O_2$ consumido/100 g TF) frente al consumo de las plantas de invernadero (0.66 y $0.63 \%O_2$ consumido/100 g TF para I.mulch e I.trad; respectivamente).

La pendiente del modelo lineal obtenido para el $\%O_2$ consumido corresponde a la tasa diaria de consumo de O_2 en el envase durante el almacenamiento, que según lo indicado previamente puede ser asociado a la velocidad de respiración del vegetal. En los envases con atmósfera modificada activa, la pendiente correspondiente al consumo de las plantas de campo, fue significativamente diferente a la pendiente de las plantas de I.mulch ($p = 0.0002$) y a la de las plantas de I.trad ($p = 0.0028$). Las pendientes correspondientes al consumo de O_2 en las plantas de invernadero no fueron significativamente diferentes entre sí ($p = 0.6632$).

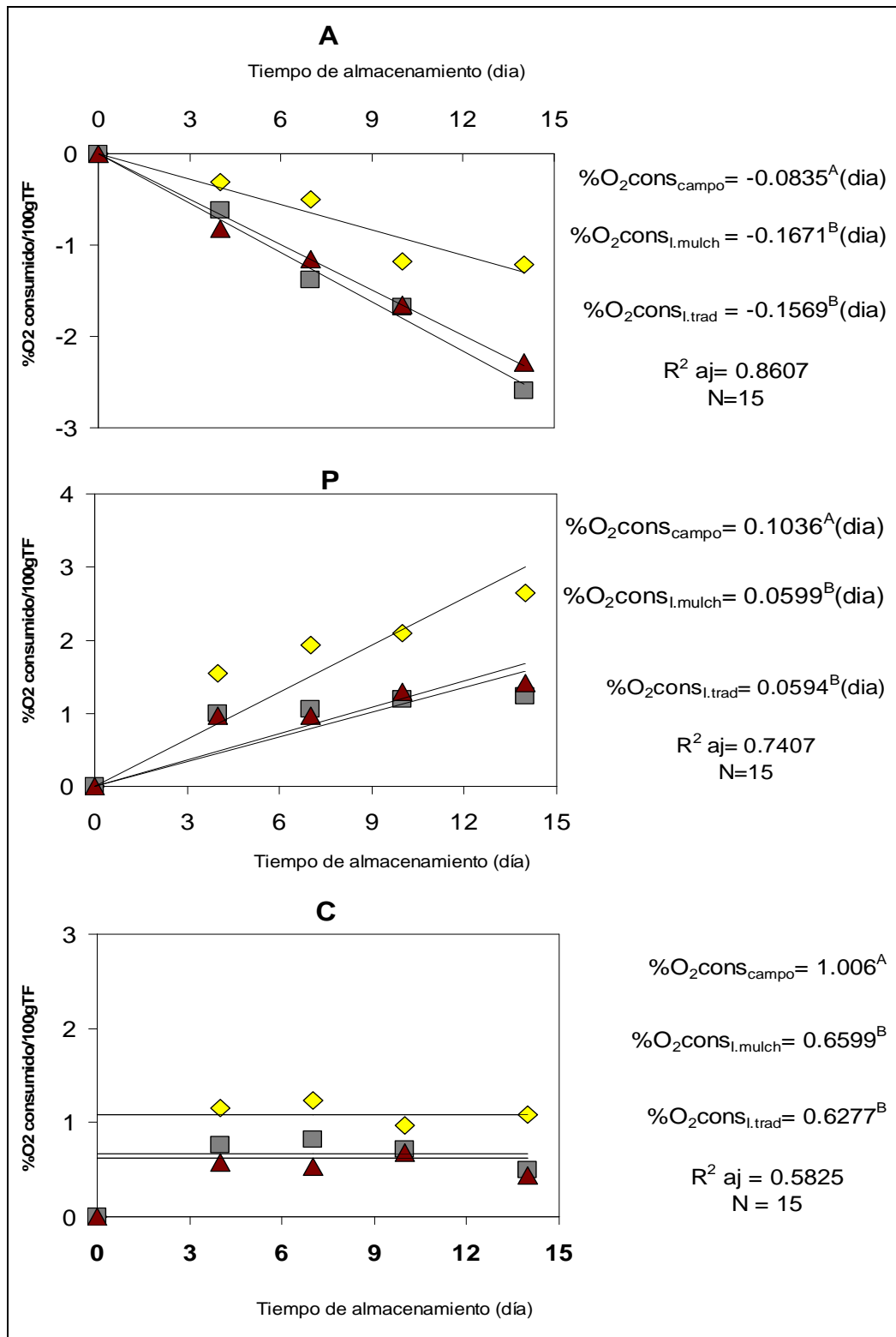


Figura 16: Ajuste lineal de las medias estimadas del consumo de O₂ de lechuga manteca, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de la media por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las pendientes.

Según este resultado, la tasa de consumo de O₂ en las plantas de campo fue 1.9 veces superior a la tasa en las plantas de invernadero. Resultados similares se encontraron para las plantas envasadas en atmósfera modificada pasiva, donde la pendiente de las plantas de campo fue también significativamente diferente a las pendientes de las plantas de *I.mulch* ($p = 0.0326$) y *I.trad* ($p = 0.0354$). Las pendientes de las plantas de invernadero no mostraron entre sí diferencias significativas ($p = 0.9839$), siendo la pendiente de las plantas de campo 1.8 veces superior a la pendiente media de las plantas de invernadero.

2. Pérdida de peso

Las plantas de lechuga no mostraron pérdida de peso significativa a lo largo del almacenamiento, para ninguno de los tipos de envasado (datos no mostrados). Este resultado fue consistente con lo esperado ya que los materiales de las bolsas actuaron como barrera al vapor de agua, generando dentro del mismo un ambiente de saturación que limitó la deshidratación. Tampoco se observó pérdida de peso apreciable debida al consumo de fotoasimilados durante el proceso catabólico de respiración, dado que la baja temperatura de almacenamiento ralentizaría los procesos metabólicos de las plantas. Ares *et al.* (2008b) encontraron, para hojas de lechuga manteca almacenadas en atmósfera modificada (activa y pasiva), una disminución al día 15 del 5 % y del 10 % trabajando con temperaturas de almacenamiento de 5 °C y 10 °C, respectivamente (sin diferencias significativas entre los tipos de atmósferas). Los autores atribuyen la falta de diferencias significativas a que la pérdida de peso, en las condiciones del estudio, se vio más afectada por la deshidratación superficial que por la tasa respiratoria. En el presente estudio, la temperatura de almacenamiento fue aún menor, por lo que la pérdida de peso fue menor al 5 % al final del almacenamiento.

Este resultado representa una ventaja comercial frente a la práctica habitual de comercialización de las plantas de lechuga entera (sin envase), en las que las mismas no son envasadas y por lo tanto sufren una disminución significativa del peso.

3. Estado del agua

En la lechuga manteca, el deterioro está fuertemente relacionado con la pérdida de agua, tanto por las pérdidas económicas asociadas a la pérdida de peso como por las consecuencias que la deshidratación produce en la apariencia (Kader, 1992; Agüero *et al.*, 2008) y en la actividad metabólica de los tejidos (Barg *et al.*, 2009). En el capítulo anterior de calidad inicial, se mostró que al momento de la cosecha las plantas presentaron características fisiológicas y morfológicas diferentes según sean obtenidas por cultivo en campo o en invernadero, ya sea el tradicional o con *mulch*. Se relacionaron los cambios observados en el estado del agua al momento de la cosecha con las diferencias en la estructura de la epidermis, la morfología de las hojas y la actividad estomática de las plantas. En el presente capítulo, la evolución de los índices del estado del agua durante el almacenamiento se analizó con el objetivo de determinar si estas características particulares al momento de la cosecha producen, en plantas de lechuga manteca de la misma variedad, respuestas diferenciales frente a un mismo tratamiento durante la postcosecha (en este caso: tipo de atmósfera de envasado).

La difusión del vapor de agua desde la fruta se produce a través de la epidermis, de los estomas y lenticelas (Laurin *et al.*, 2006). Esta difusión está regulada por la resistencia a la difusión, la que a su vez depende fuertemente del cultivar, estadio de madurez, superficie expuesta, morfología de la hoja, etc. (Paul; Srivastava, 2006) lo que lleva a esperar una difusión diferenciada durante el almacenamiento.

a. Contenido de Agua Relativo

En la Figura 17 se puede observar la evolución del contenido relativo de agua (CRA) en las distintas zonas de las plantas de lechuga manteca, según el método de cultivo utilizado y el tipo de atmósfera de almacenamiento. Los cambios observados en CRA pueden ser relacionados con diferencias en la capacidad del tejido de retener agua (Agüero *et al.*, 2008) ya sea por diferencias en el grado de desarrollo de la hoja o por cambios en el potencial osmótico dentro de las vacuolas (Alzamora *et al.*, 2000). Consistentemente con los resultados presentados por Barg *et al.* (2009), el CRA resultó un indicador más sensible del estado de agua en la planta que el CA. Como se

mostrará posteriormente (Figura 18), el CA no mostró un cambio significativo durante el almacenamiento, mientras que sí se observaron modificaciones en el CRA.

Del análisis de la varianza para el CRA en lechuga manteca, según los factores día, método de cultivo, tipo de atmósfera y zona, se obtiene que no existe interacción cuádruple significativa ($p = 0.9430$) mientras que sí son significativas dos de las interacciones triples: la interacción que considera los factores día, método de cultivo y tipo de atmósfera ($p = 0.0396$) y la constituida por los factores día, el método de cultivo y zona ($p = 0.0044$).

En la Tabla 18 se presentan los resultados de la interacción triple entre los factores día, método de cultivo y tipo de atmósfera. En general, para todos los tipos de atmósferas ensayadas los valores de CRA se incrementaron significativamente durante el almacenamiento. Mientras que los incrementos observados para lechugas de campo e I.trad se mantuvieron hasta el final del almacenamiento, para lechuga *I.mulch* envasada en atmósfera pasiva y control los valores más altos de CRA se observaron al día 10, descendiendo al final del almacenamiento. Solo en la lechuga *I.mulch* envasada en atmósfera activa los valores de CRA se mantuvieron constantes a lo largo del almacenamiento.

La Tabla 19 muestra los resultados de la interacción triple entre el día, el método de cultivo y la zona dentro de la planta. En las plantas cultivadas a campo y en I.trad, se observaron incrementos significativos en los valores de CRA para las tres zonas de la planta, siendo los valores absolutos de CRA para lechuga de I.trad significativamente más altos que los de lechuga de campo a lo largo de todo el almacenamiento. En lechuga *I.mulch* se obtuvieron valores de CRA iniciales similares a lechuga de I.trad en zonas media e interna, mientras que para la zona externa presentó valores intermedios entre lechuga de campo y lechuga de I.trad. Durante el almacenamiento los valores de CRA para este tipo de lechuga se mantuvieron constantes en zona externa y media, mientras que para la zona interna se observó una disminución significativa a partir del día 4.

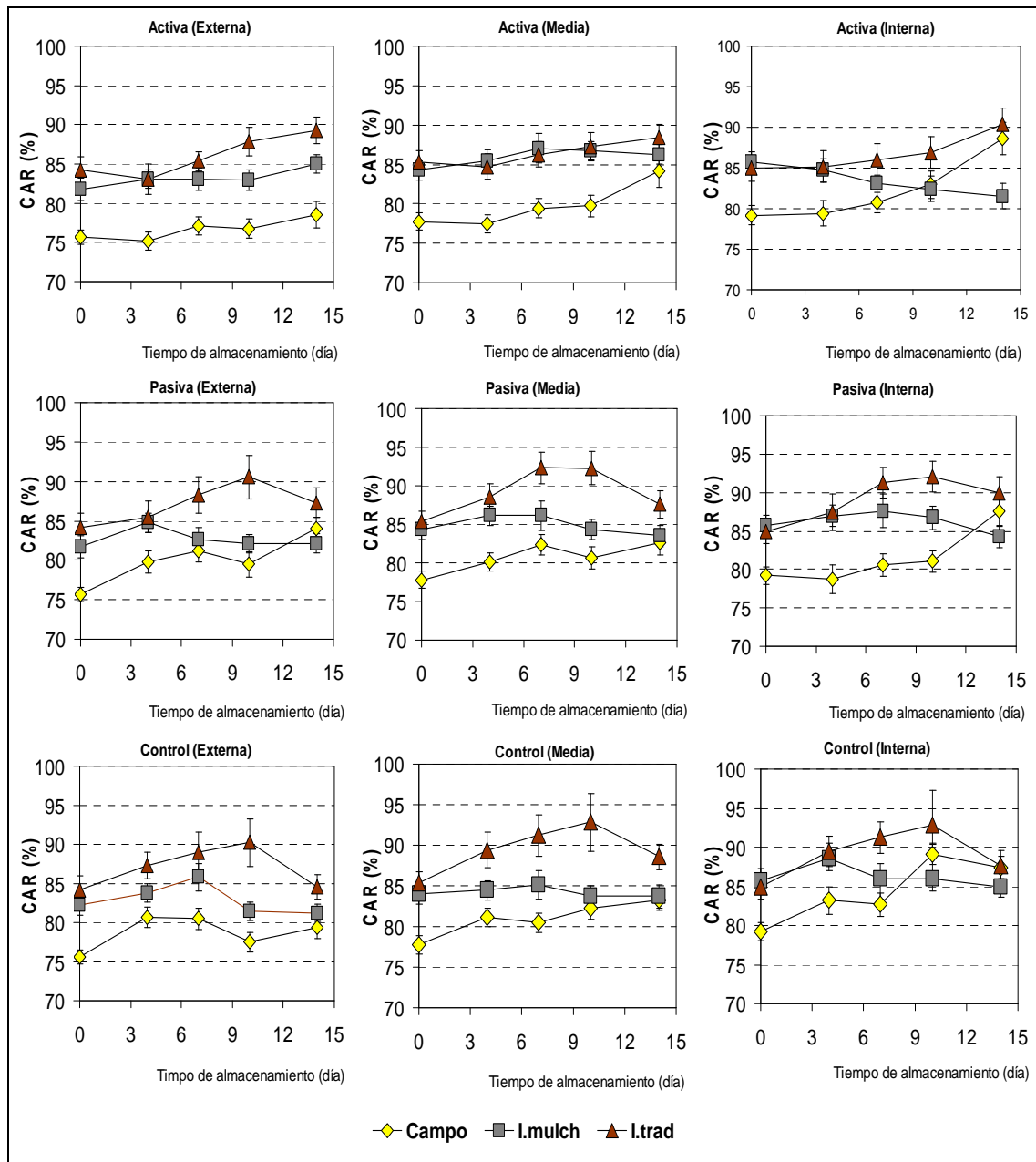


Figura 17: Evolución del contenido relativo de agua (CRA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Tabla 18: Comparaciones de las medias del contenido relativo de agua (CRA, %) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 77.56 ^{Aa} | 83.91 ^{Ab} | 84.84 ^{ABb} |
| 4 | 77.35 ^{Aa} | 84.45 ^{Ab} | 84.33 ^{Ab} |
| 7 | 79.11 ^{Ba} | 84.42 ^{Bb} | 85.86 ^{Bb} |
| 10 | 79.80 ^{Ba} | 84.02 ^{Ab} | 87.35 ^{Bc} |
| 14 | 83.79 ^{Ca} | 84.28 ^{Aa} | 89.34 ^{Cb} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 77.54 ^{Aa} | 83.90 ^{Ab} | 84.84 ^{Ab} |
| 4 | 79.55 ^{Ba} | 85.96 ^{Bb} | 87.15 ^{Bb} |
| 7 | 81.34 ^{Ca} | 85.46 ^{Bb} | 90.62 ^{Cc} |
| 10 | 80.40 ^{BCa} | 84.39 ^{Ab} | 91.64 ^{Cc} |
| 14 | 84.73 ^{Da} | 83.30 ^{Cb} | 88.30 ^{Bc} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 77.51 ^{Aa} | 83.98 ^{Ab} | 84.84 ^{Ab} |
| 4 | 81.65 ^{Ba} | 85.57 ^{Bb} | 88.72 ^{Bc} |
| 7 | 81.23 ^{Ba} | 85.60 ^{Bb} | 90.94 ^{Cc} |
| 10 | 82.98 ^{BCa} | 83.75 ^{Aa} | 91.98 ^{Cb} |
| 14 | 83.31 ^{Ca} | 83.30 ^{Aa} | 86.94 ^{Db} |

Tabla 19: Comparaciones de las medias del contenido relativo de agua (CRA, %) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) según la posición en la hoja (zona) durante el almacenamiento. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Zona externa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 75.65 ^{Aa} | 81.90 ^{Ab} | 84.21 ^{ABc} |
| 4 | 80.14 ^{Ba} | 83.86 ^{Bb} | 85.30 ^{ABb} |
| 7 | 79.58 ^{Ba} | 84.64 ^{Bb} | 86.96 ^{Bc} |
| 10 | 77.90 ^{Aa} | 82.15 ^{Ab} | 89.54 ^{Cc} |
| 14 | 80.64 ^{Ba} | 82.79 ^{Ab} | 87.03 ^{BCc} |
| Zona media | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 77.78 ^{Aa} | 84.16 ^{Ab} | 85.37 ^{Ab} |
| 4 | 79.59 ^{Ba} | 87.37 ^{Bb} | 87.53 ^{Bb} |
| 7 | 80.76 ^{Ca} | 86.08 ^{Bb} | 89.93 ^{Cc} |
| 10 | 78.89 ^{BCa} | 84.95 ^{ABb} | 90.81 ^{Cc} |
| 14 | 83.33 ^{Da} | 84.50 ^{ABa} | 88.19 ^{Bc} |
| Zona interna | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 79.19 ^{Aa} | 85.72 ^{Ab} | 84.94 ^{Ab} |
| 4 | 79.77 ^{Aa} | 86.74 ^{Ab} | 87.36 ^{Bb} |
| 7 | 83.68 ^{Ba} | 82.54 ^{Ba} | 89.51 ^{Cc} |
| 10 | 86.72 ^{Ca} | 81.06 ^{Bb} | 90.61 ^{Cc} |
| 14 | 87.86 ^{Ca} | 83.59 ^{Bb} | 89.36 ^{Ba} |

Las plantas cultivadas a campo presentaron valores de CRA menores a los de las plantas obtenidas en invernadero, indicando un menor grado de hidratación al momento de la cosecha. Durante el almacenamiento, las plantas cultivadas en campo e I.trad presentaron los mayores incrementos en los valores de CRA en las tres zonas de la planta, indicando una alta capacidad de los tejidos para recuperar y retener agua cuando las plantas son expuestas a ambientes con humedad relativa saturada. Este comportamiento no se evidenció en los tejidos vegetales provenientes de lechugas *I.mulch*. Es muy probable que estas plantas al ser producidas en un sistema con buena eficiencia hídrica (donde el agua no es un factor de estrés), sus tejidos vegetales estén en su máxima capacidad de retener agua.

b. Contenido de Agua

En la Figura 18 se muestra la evolución del contenido de agua (CA) en las plantas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado en los diferentes tipos de atmósfera de envasado, según el método de cultivo utilizado y la zona dentro de la planta. Los resultados presentados en este estudio son similares a los presentados por Barg *et al.*, (2009) para la misma variedad de lechuga.

El análisis de la varianza del CA en lechuga indicó que la interacción cuádruple entre los factores y las interacciones triples fueron no significativas ($p > 0.05$). Las interacciones dobles que resultaron significativas fueron las correspondientes a los factores día y método de cultivo ($p = 0.0072$) y método de cultivo y zona ($p < 0.0001$). El factor tipo de atmósfera no resultó significativo en ninguna de las interacciones dobles, ni en el efecto principal ($p = 0.8568$). Esto último es consistente con lo observado en la Figura 18, donde se observa un comportamiento similar del CA en todos los tipos de atmósfera estudiados.

Según lo observado a través del CA de las plantas, las condiciones dentro del envase fueron tales que no permitieron la deshidratación de las plantas. En todos los métodos de cultivo estudiados, la diferencia entre el CA al final del almacenamiento y el del momento de la cosecha fue menor al 1 %, por lo que las modificaciones que se observaron en el CRA durante el almacenamiento estarían relacionadas con la

modificación en la capacidad de retención de agua por modificaciones estructurales y/o fisiológicas de los tejidos y no con la deshidratación.

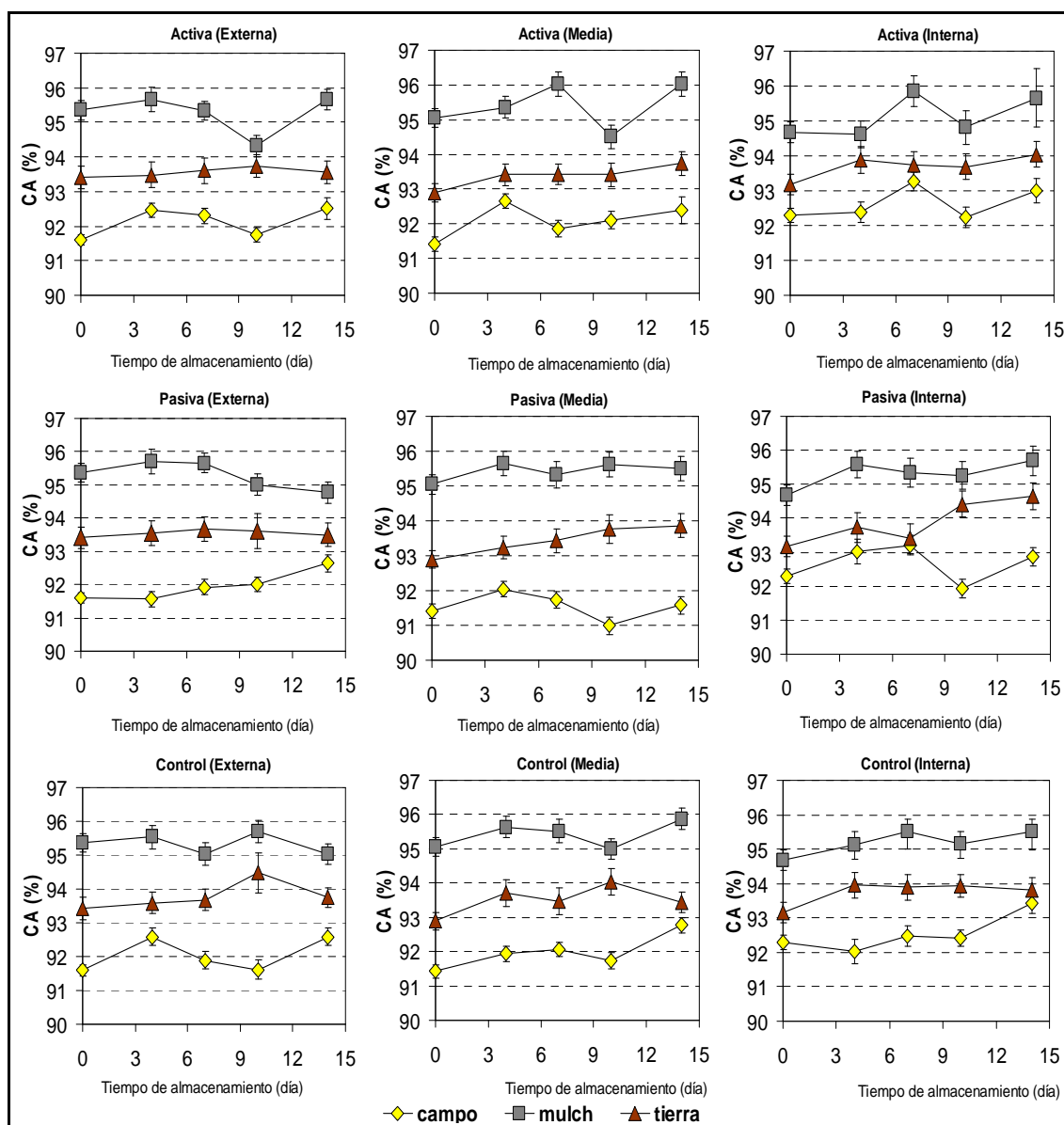


Figura 18: Evolución del contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Los resultados del análisis de la interacción entre los factores día y método de cultivo son presentados en la Tabla 20. Las plantas de lechuga provenientes de campo

presentaron CA significativamente menores a las de invernadero a lo largo de todo el almacenamiento. Al momento del envasado, las plantas de campo presentaron un CA 3.26 % y 1.38 % menor que las plantas de I.mulch e I.trad, respectivamente. A partir del día 4 todas las plantas incrementaron su CA, manteniéndose constante hasta el final del almacenamiento. Las plantas de invernadero también presentaron diferencias significativas entre sí, siendo las plantas de I.trad las que presentaron menores CA. La diferencia de presión de vapor existente entre el interior de la hoja y la atmósfera en el espacio de cabeza actuaría como fuerza impulsora a la transferencia de vapor de agua, generando un intercambio activo a través de la epidermis de las hojas. El incremento observado durante el almacenamiento en el CA estaría directamente relacionado con esta diferencia de potencial, que fue mayor en las plantas provenientes de campo, lo que se traduce en un mayor aumento del CA a lo largo del almacenamiento respecto del aumento en las plantas de invernadero.

Tabla 20: Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA, %) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|---------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 91.77 ^{Aa} | 95.03 ^{Ab} | 93.16 ^{Ac} |
| 4 | 92.30 ^{Ba} | 95.43 ^{ABb} | 93.61 ^{Bc} |
| 7 | 92.30 ^{Ba} | 95.51 ^{Bb} | 93.59 ^{Bc} |
| 10 | 92.09 ^{ABa} | 94.93 ^{Ab} | 93.89 ^{Bc} |
| 14 | 92.64 ^{Ba} | 95.52 ^{Bb} | 93.81 ^{Bc} |

En la Tabla 21 se presentan los resultados del análisis de la interacción de los factores zona y método de cultivo. El método de cultivo utilizado en la etapa de producción primaria de las plantas de lechuga influye significativamente en el CA de las diferentes zonas de la planta. El CA de las hojas de cada zona es diferente en cada uno de los métodos de cultivo estudiados, siendo las plantas de campo las de menor CA, seguidas por las de I.trad y por último las de *I.mulch*. En las plantas de campo, se encontraron diferencias significativas en el CA de la zona interna (92.61 %) respecto de las zonas media y externa (91.92 %). En las plantas de invernadero no se

encontraron diferencias significativas en el CA de las diferentes zonas, con valores medios de 95.28 % y 93.61 % para *I.mulch* e *I.trad*, respectivamente.

Tabla 21: Comparaciones de las medias del contenido de agua (CA, %) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y ubicación de la hoja (zona). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | <i>I.mulch</i> | <i>I.trad</i> |
|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 91.97 ^{Aa} | 95.30 ^{Ab} | 93.63 ^{Ac} |
| Media | 91.88 ^{Aa} | 95.41 ^{Ab} | 93.44 ^{Ac} |
| Interna | 92.61 ^{Ba} | 95.14 ^{Ab} | 93.77 ^{Ac} |

La evolución del CA en las plantas de lechuga manteca durante el almacenamiento, según el método de cultivo utilizado, siguió una tendencia lineal en todos los casos (Figura 19). En una primera instancia se ajustó un modelo lineal con tres pendientes diferentes, una para cada uno de los métodos de cultivo utilizado. El modelo completo fue significativo ($R^2_{aj} = 0.9680$), sin embargo no fueron significativas las diferencias entre las pendientes correspondientes a cada método de cultivo ($p = 0.8638$ entre campo e *I.mulch*, $p = 0.8128$ entre campo e *I.trad* y $p = 0.8834$ entre *I.trad* e *I.mulch*) y sí fueron diferentes las ordenadas al origen ($p < 0.0001$ en todos los pares de comparaciones). El nuevo modelo para la evolución del CA durante el almacenamiento, representado por una misma pendiente con diferentes ordenadas al origen presentó un R^2 de 0.9701 y se muestra en la Figura 19.

La evolución del CA durante el almacenamiento de las plantas de lechuga manteca mostró en todos los tipos de envase perfiles similares, conservándose la tasa de incremento hasta el final del mismo. Este modelo lineal de pendiente constante que representa la evolución del CA durante el almacenamiento es consistente con los resultados presentados en el capítulo de calidad inicial, ya que las únicas diferencias significativas en el modelo se encuentran en el valor inicial (ordenada al origen) y no en la tasa de incremento del CA (pendiente). La elevada humedad relativa ($> 95\%$) dentro del envase garantiza que el tejido vegetal se mantenga hidratado durante el almacenamiento.

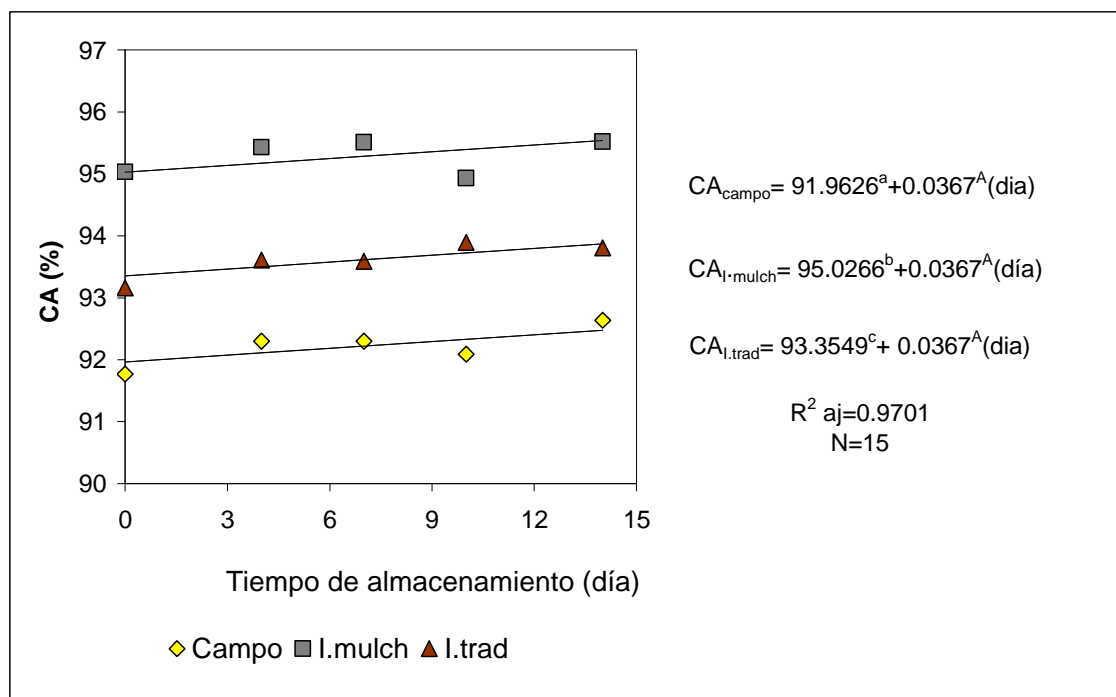


Figura 19: Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido de agua (CA) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden a los estimadores de la media por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$).

El CA de las hojas de lechuga es un indicador útil del estado del agua sólo cuando la atmósfera en la que se encuentra la planta sufre variaciones en la presión de vapor, tal que se generen gradientes tales que favorezcan la transferencia de agua desde la superficie de la hoja al ambiente. Si la atmósfera de almacenamiento está saturada, el CA no es lo suficiente sensible para demostrar cambios significativos.

c. Contenido de Agua Libre, Agua Unida y Relación Agua Libre/Agua Total

La evolución del contenido de agua libre (AL) y el contenido de agua unida (AU) en las plantas de lechuga manteca durante el almacenamiento puede verse en las Figuras 20 y 21, respectivamente. Debido a que dichos índices están fuertemente relacionados entre sí, se presenta un análisis en conjunto.

En el análisis de la varianza del AL y del AU se obtuvo, en ambos casos, una interacción cuádruple significativa ($p < 0.0001$). Con el objetivo de simplificar el análisis, el factor tipo de atmósfera fue eliminado. Se continuó el análisis estadístico para los factores día, método de cultivo y zona para cada uno de los tipos de atmósfera por separado. Como consecuencia ningún tipo de comparación entre los tipos de atmósfera pudo realizarse estadísticamente. En el nuevo análisis, se obtuvieron en todos los casos interacciones triples significativas ($p < 0.0001$) para los factores día, método de cultivo y zona. Tanto el AL como el AU, son índices muy sensibles a las condiciones ambientales y/o a las características fisiológicas del tejido.

En general, en los tres tipos de atmósfera, el AL de las plantas de campo fue significativamente menor al de las plantas de invernadero (Figura 20). Por otro lado, el AU de las plantas provenientes de campo fue significativamente mayor solamente en la zona externa y media (Figura 21). El AU en la zona interna de la planta presentó durante el almacenamiento un comportamiento diferente, ya que las plantas de campo presentaron valores similares a los de las plantas de l.mulch.

La evolución del AL en las plantas envasadas en atmósfera activa mostró un comportamiento similar para los tres métodos de cultivo, en la zona externa y media. En las plantas provenientes de campo AL se mantuvo constante durante el almacenamiento, mientras que las de invernadero mostraron una disminución promedio hacia el final del almacenamiento del 20 %, respecto del valor AL a cosecha. En cambio, las tendencias observadas para la evolución de AU en las plantas envasadas en atmósfera activa mostraron claros incrementos en todas las zonas.

Las plantas envasadas en atmósfera pasiva y control, mostraron una evolución del AL diferente según la zona, sin una tendencia definida. En la zona externa, las plantas de campo e l.trad mantuvieron el AL prácticamente constante hasta el final del almacenamiento, mientras que las plantas de l.mulch mostraron una reducción cercana al 35 % al día 14 respecto del AL al momento de la cosecha. En la zona media, fueron las plantas de invernadero las que mostraron un comportamiento casi constante durante el almacenamiento y las de campo mostraron una reducción del AL cercana al 50 %.

Por otro lado, la evolución del AL en la zona interna mostró un incremento del 50 % en el AL de las plantas de I.trad, en los envases con atmósfera pasiva, mientras que el AL disminuyó en las envasadas en atmósfera control (20 % respecto de la cosecha). En las plantas provenientes de campo, también en la zona interna, el AL disminuyó en un 10% en los tres tipos de atmósfera.

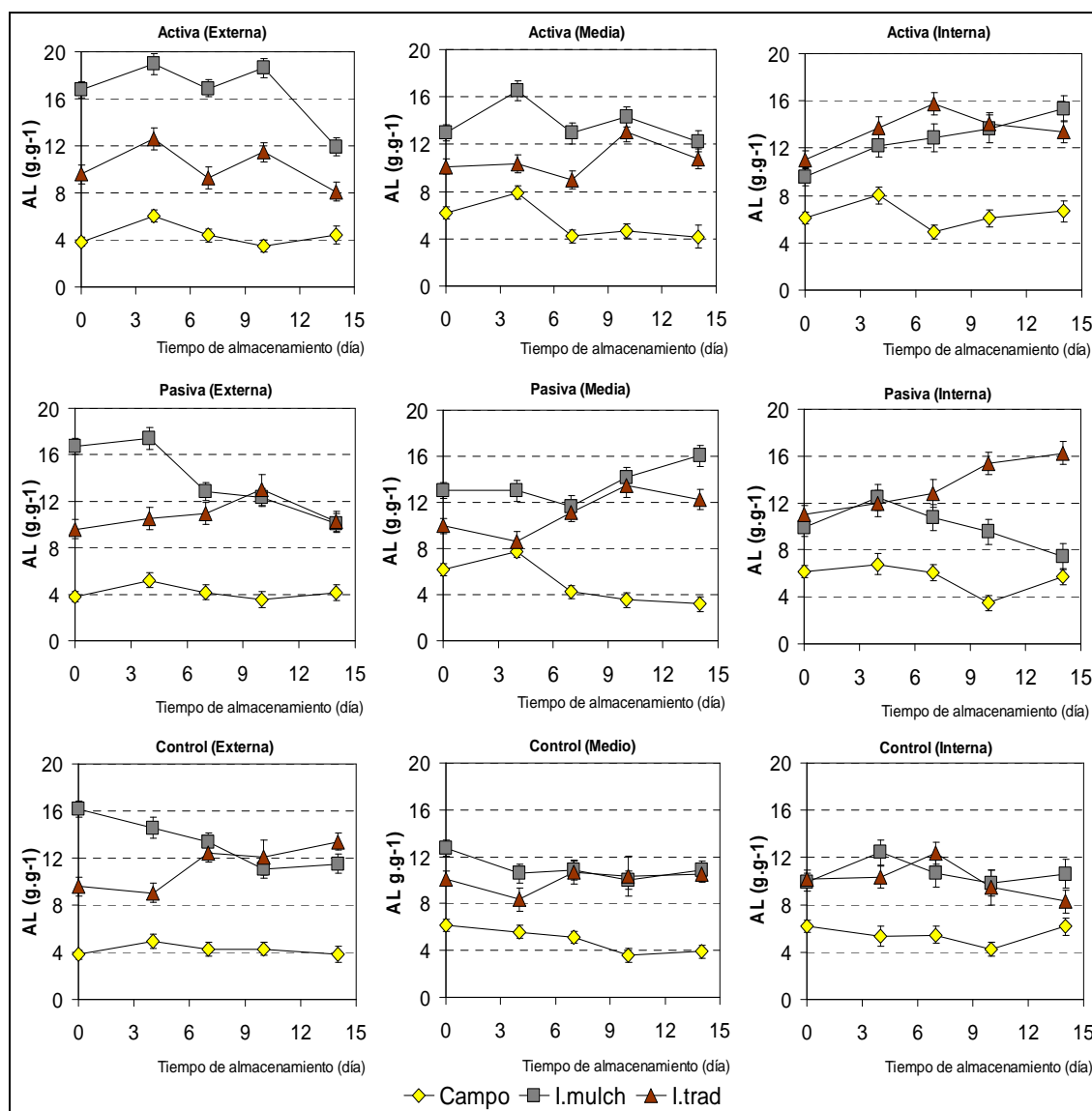


Figura 20: Evolución del contenido de agua libre (AL) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Por su parte, el AL en las plantas de I.mulch mostró una reducción del 30 % en los envases con atmósfera pasiva y un leve incremento en las plantas en atmósfera control (10 %). Al igual que en las plantas envasadas en atmósfera activa, la evolución del AU mostró tendencias claras en todas las zonas, en todas ellas el AU se incrementó al día 14 respecto del valor al momento de la cosecha.

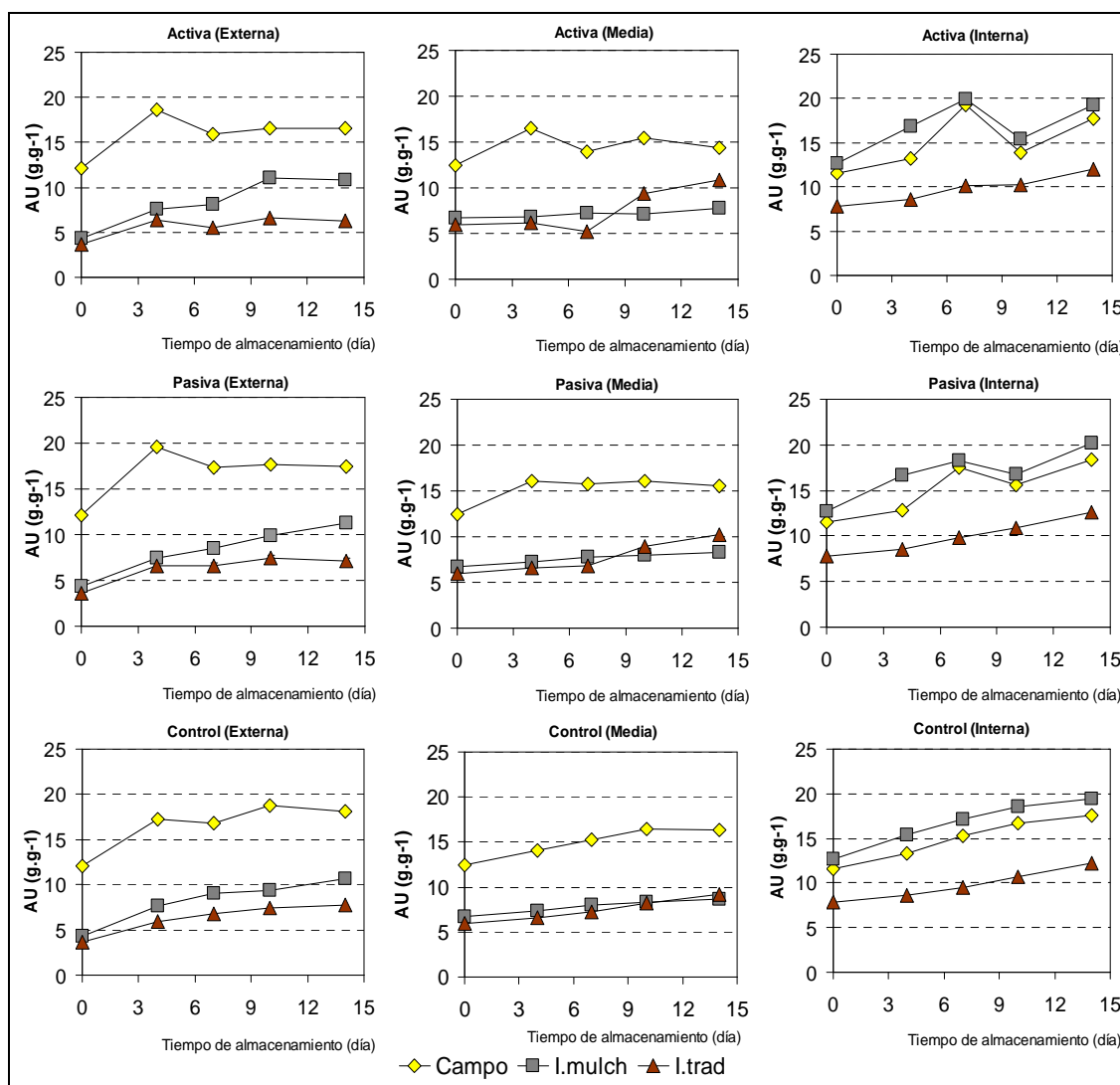


Figura 21: Evolución del contenido de agua unida (AU) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación en la planta (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

En la Figura 22 se puede ver la evolución de la relación de agua libre y agua total (AL/AT) en las plantas de lechuga manteca almacenadas en atmósfera

modificadas, según la ubicación de la hoja en la planta (zona) y el método de cultivo al que pertenecen.

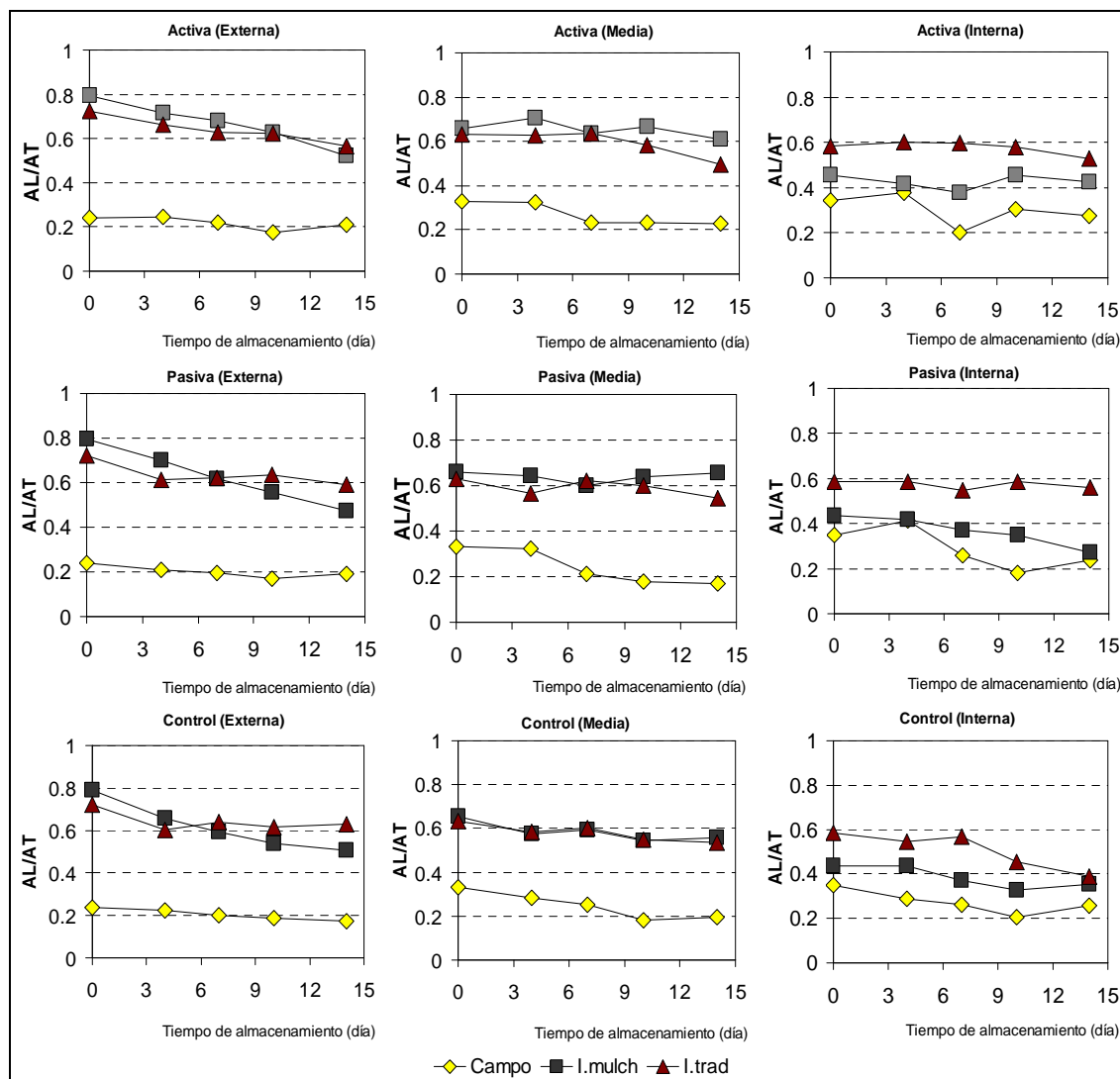


Figura 22: Evolución de la relación agua libre/ agua total (AL/AT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación en la planta (E: externa, M: media e I: interna) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

En general, las plantas de campo mantienen durante todo el almacenamiento relaciones AL/AT menores que los correspondientes en las plantas provenientes de invernadero. Las plantas de invernadero, en la zona externa y en la zona media, presentaron tendencias de AL/AT similares a lo largo del almacenamiento. En todos los casos, se observó una disminución de los valores de AL/AT respecto del momento de la cosecha. Esta reducción en el AL/AT probablemente se relacione con una

respuesta al corte del suministro hídrico y de nutrientes, consecuencia de la cosecha (Agüero *et al.*, 2008; Barg *et al.*, 2009). En la zona interna, las plantas provenientes de *I.mulch* presentaron valores de AL/AT menores que los de *I.trad*, aunque mayores que los correspondientes a las plantas de campo.

Las variaciones observadas en la relación AL/AT deben ser principalmente atribuidas a las variaciones en el AL, como se enunció anteriormente en todos los tipos de atmósfera utilizados en el estudio, la humedad relativa dentro del envase fue de saturación (> 95 %). Los cambios en AL/AT observados durante el almacenamiento probablemente indicarían movimientos internos de agua que le permitirían al tejido, adaptarse a condiciones ambientales adversas (estrés hídrico), otorgándole una cierta plasticidad. En las hojas externas de las plantas provenientes de campo, los cambios en AL/AT no son tan pronunciados como en el resto de las zonas, posiblemente relacionado con una relación AL y AU diferente en este tipo de plantas. Como ya se mencionó, en las plantas de campo el AL se encuentra muy por debajo del correspondiente valor en las plantas de invernadero, lo que reduciría la posibilidad de reacomodamientos internos del agua. Esto podría estar relacionado con la mayor cantidad de agua que el tejido debió fijar durante el período de precosecha, alcanzando un máximo en ese momento, impidiendo posteriores reacomodamientos internos.

La relación AL/AT permite determinar la proporción de agua dentro del tejido que se encuentra biodisponible. Agüero *et al.*, (2008) asociaron esta relación con la capacidad de deterioro del vegetal, siendo a mayores valores de AL/AT, menor vida útil del producto. En base a esta afirmación, se podría decir que la zona externa y la zona media de las plantas provenientes de invernadero, tendría una menor vida útil potencial que la zona externa y media de las plantas provenientes de campo, en los tres tipos de atmósfera estudiados.

El tipo de atmósfera utilizado produciría variaciones en la relación AL/AT diferentes según sea la planta proveniente de campo o de invernadero y también según la zona en la que se determine. Si bien dichas variaciones son detectadas estadísticamente, no muestran una tendencia definida que permita identificar beneficios de un tipo de atmósfera sobre otro, en términos de la vida útil potencial. Esto podría estar relacionado con la elevada humedad relativa dentro del envase, sin

importar el tipo de atmósfera utilizada, ya que el material actúa como barrera al vapor de agua. Sumado a esto, la baja temperatura utilizada durante el estudio (0 – 2 °C) reduce considerablemente la actividad metabólica de las plantas (Del Novile *et al.*, 2006; Farber *et al.*, 2003) con un importante impacto en la vida útil respecto de otras variables como la composición de la atmósfera de empaque.

4. Color

El color de la lechuga es un índice de calidad crítico para definir la calidad y determinar la duración de la vida útil (Ragaert *et al.*, 2004). Las condiciones de almacenamiento utilizadas deben ser tales que permitan minimizar los cambios indeseables en el color, prolongando así la vida útil del producto. En el caso de la lechuga manteca, la modificación de la atmósfera dentro del envase mediante la reducción del O₂ y el incremento del CO₂, debe ser cuidadosamente estudiada para evitar que alcance niveles que desencadenen los procesos bioquímicos asociados a la respiración anaeróbica. Si el nivel de O₂ dentro del envase es menor a 1 %, la respiración anaeróbica producirá rotura de tejidos y liberación de sustancias que muchas veces son sustratos de reacciones de oxidación, dando como productos finales sustancias coloreadas que pueden producir modificaciones en el color de la lechuga. En adición a esto, los niveles elevados de CO₂ en el envase producirán daños fisiológicos en las hojas de lechuga asociados al pardeamiento (Fonseca *et al.*, 2002; Ares *et al.*, 2008b).

El color de los vegetales de hoja se relaciona con la presencia de pigmentos vegetales, especialmente clorofila, carotenoides y compuestos pardos (productos del pardeamiento enzimático). Los parámetros de color medidos en este trabajo, especialmente el parámetro L*, pueden verse influenciados por la presencia de agua en la superficie de las hojas, que suele depositarse al condensarse el vapor de agua presente en la atmósfera saturada del espacio de cabeza. Otro factor a tener en cuenta es la presencia o no de tierra en las hojas de lechuga ya que las plantas no fueron lavadas antes de ser envasadas. Estos factores, si bien no son propios de la hoja de lechuga, fueron considerados como consecuencia del método de cultivo y de la zona dentro de la planta. En las plantas de I.mulch, la cobertura plástica disminuye el contacto de las hojas con el suelo y las plantas llegan con menor contenido de tierra. En las plantas de campo, la mayor exposición incrementaría la cantidad de tierra depositada sobre las hojas, posiblemente por la lluvia y el viento, que son menores en el cultivo realizado en invernadero. En las hojas de la zona media e interna, las diferencias en el color se relacionarían más con el grado de desarrollo y el estado fisiológico que con la exposición a los factores ambientales, ya que la forma que tiene la planta (con una cabeza compacta) disminuye el ingreso de la tierra, si bien no lo evita completamente.

a. Parámetros $L^*a^*b^*$

La evolución del parámetro L^* para lechuga manteca durante el almacenamiento, se muestra en la Figura 23. Como fuera mencionado en el capítulo anterior, el parámetro L^* se asocia comúnmente con la luminosidad del color (Westland, 2001), utilizando para ello una escala que va del 0 (negro) al 100 (blanco). El análisis de la varianza del parámetro L^* en hojas de lechuga manteca mostró una interacción cuádruple significativa entre los factores en estudio ($p = 0.0005$). Durante el almacenamiento, el parámetro L^* no siguió una tendencia definida en las zonas externa y media de la planta, llegando en general al día 14 con valores similares a los del día 0, en los tres tipos de envase.

En la zona interna, la evolución del parámetro L^* mostró una tendencia creciente en las plantas de I.trad, en los tres tipos de atmósfera. En las plantas provenientes de campo e I.mulch, en general, el parámetro L^* correspondiente a la zona interna se mantuvo relativamente constante, con un valores medios de 69.4, 71.5 y 70.8 para atmósfera activa, pasiva y control, respectivamente.

En los tres tipos de atmósfera utilizados, el parámetro L^* en la zona externa de las plantas de campo mostró valores menores a los de las plantas de invernadero. Vega-Gálvez *et al.* (2008) relacionaron el incremento en el valor L^* con un aumento en el contenido de agua, trabajando con morrones rehidratados. Tomás-Barberán *et al.* (1997) relacionaron el incremento del parámetro L^* a la presencia de manchas marrones debidas al pardeamiento. En el presente trabajo, si bien el incremento en el CA durante el almacenamiento observado fue menor al 2 % (Figura 18) sí se produjo un incremento del CRA durante el almacenamiento (Figura 17), llevando a un aumento de la turgencia celular de las hojas que podría ser relacionado con el incremento en la luminosidad del color, en los tres tipos de atmósfera. En las plantas de campo, en particular, se observan dos situaciones enfrentadas que podrían justificar la evolución del parámetro L^* , ya que se incrementa el pardeamiento enzimático en las hojas (Figura 36) a la vez que aumenta el CRA.

El parámetro a^* representa la variación del color entre el rojo (valores positivos) y el verde (valores negativos) mientras que el parámetro b^* representa la variación entre el color amarillo (valores positivos) y el azul (valores negativos), según lo

indicado en el capítulo anterior (Westland, 2001). En el caso de la lechuga, valores típicos de a^* se observan en el rango de los números negativos y el parámetro b^* , en números positivos. La evolución del parámetro a^* durante el almacenamiento de lechuga manteca en atmósferas modificadas, según el método de cultivo empleado y la zona dentro de la planta se muestra en la Figura 24. El análisis estadístico del parámetro a^* mostró una interacción cuádruple significativa ($p < 0.0001$) entre los factores en estudio. También resultaron significativas las interacciones triples ($p < 0.0001$ en los tres casos) al analizar los valores de a^* , para cada tipo de atmósfera por separado.

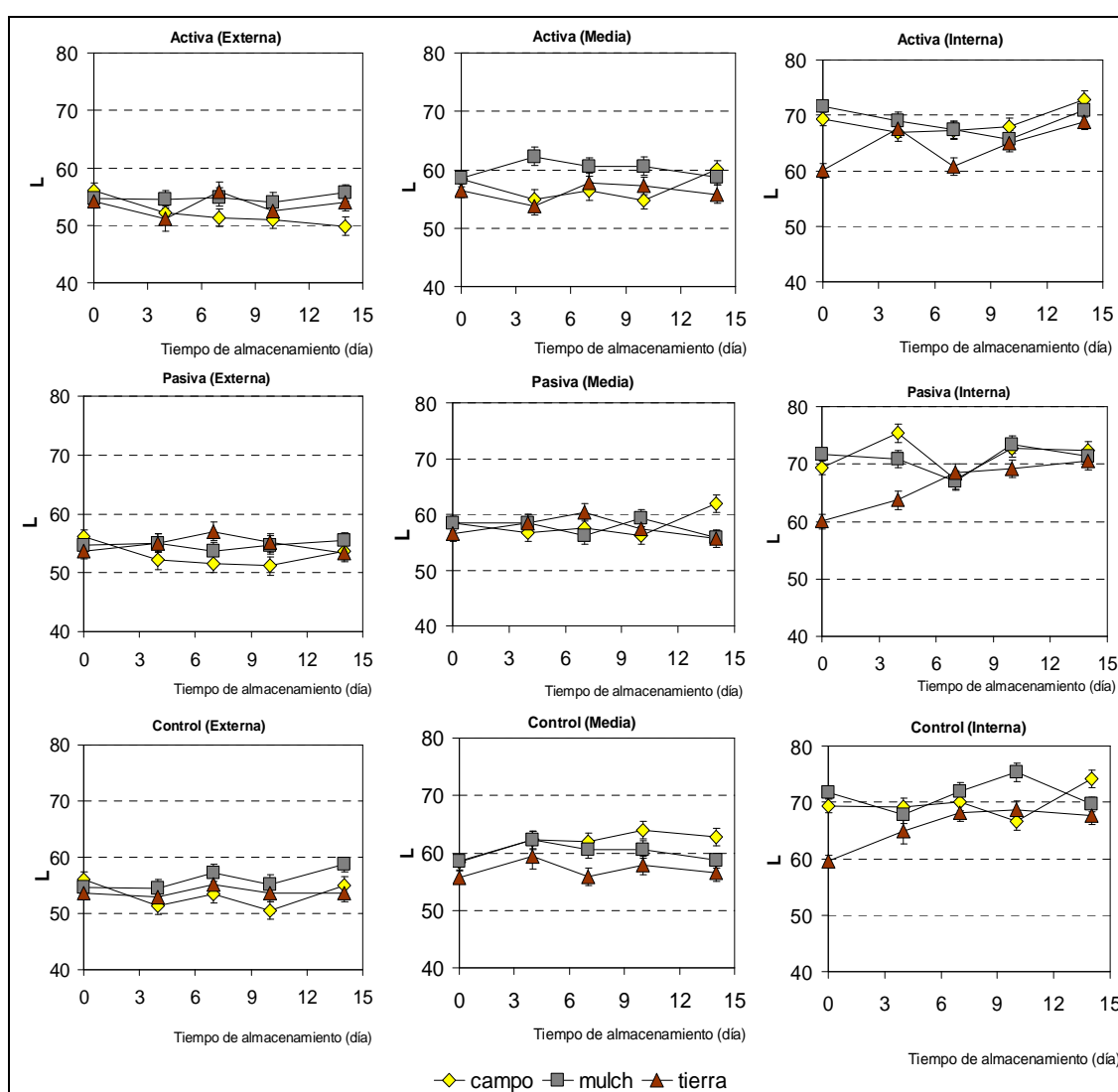


Figura 23: Evolución del parámetro de color L^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación en la planta (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

En las plantas envasadas en atmósfera modificada activa se observa un comportamiento diferenciado de las diferentes zonas de la planta, donde las hojas provenientes de la zona interna presentaron valores de a^* mayores a los de la zona externa y media para las plantas de campo e I.mulch, mientras que las plantas de I.trad presentaron valores similares en las tres zonas. En las plantas de campo, tanto la zona externa como la media, mostraron un incremento sostenido del parámetro a^* durante el almacenamiento, indicando así una disminución del color verde. Valores elevados del parámetro a^* han sido asociados a la presencia de manchas por pardeamiento enzimático (Tomás-Barberán *et al.*, 1997; Tano *et al.*, 2007) lo que resulta consistente con los resultados del análisis sensorial de las hojas que será presentado más adelante (Tabla 35).

En las plantas envasadas en atmósfera pasiva, el parámetro a^* en las zonas externa y media permanece relativamente constante durante el almacenamiento (Figura 24). Si bien no hay un incremento de a^* con el tiempo como en las plantas de atmósfera activa, el valor a^* para las plantas de campo también resultó superior al de las plantas de invernadero. En la zona interna, las plantas de I.trad y campo mostraron durante el almacenamiento un incremento significativo de a^* . Al día 14, las plantas de I.trad incrementaron el valor del parámetro a^* un 20.1 %, mientras que en las plantas de campo el incremento al día 14 fue de 16.4 %. Las plantas de I.mulch durante el almacenamiento mantuvieron el valor de a^* casi constante, lo que indica un menor desarrollo de compuestos pardos asociados al incremento de dicho parámetro.

En las plantas envasadas en atmósfera control (Figura 24), el parámetro a^* en la zona externa de las plantas mostró un leve incremento, mientras que al igual que en los envases con atmósfera modificada no se observan cambios significativos en las plantas de I.mulch. En la zona media e interna, las plantas de campo presentan una evolución creciente del valor a^* durante el almacenamiento, resultado que nuevamente coincide con lo que indicó el análisis sensorial para el pardeamiento enzimático en las hojas. En la zona interna de las plantas envasadas en atmósfera control, tanto en las plantas de I.trad como en las de I.mulch, se observó un incremento del parámetro a^* .

Las hojas internas de las plantas de I.mulch presentaron el mayor valor del parámetro a^* , lo que no podría asociarse a la presencia de manchas o defectos sino con la tonalidad normal de las hojas. El contenido de clorofila en las mismas, como se

mostrará en la Figura 28, fue significativamente menor que el de las restantes zonas, lo que lleva a mayores valores de a^* . Este resultado es coincidente con el análisis sensorial realizado, en el cual los jueces otorgaron a la zona interna de estas plantas el máximo puntaje, aún cuando fueron menos verdes que las otras zonas (Figura 40).

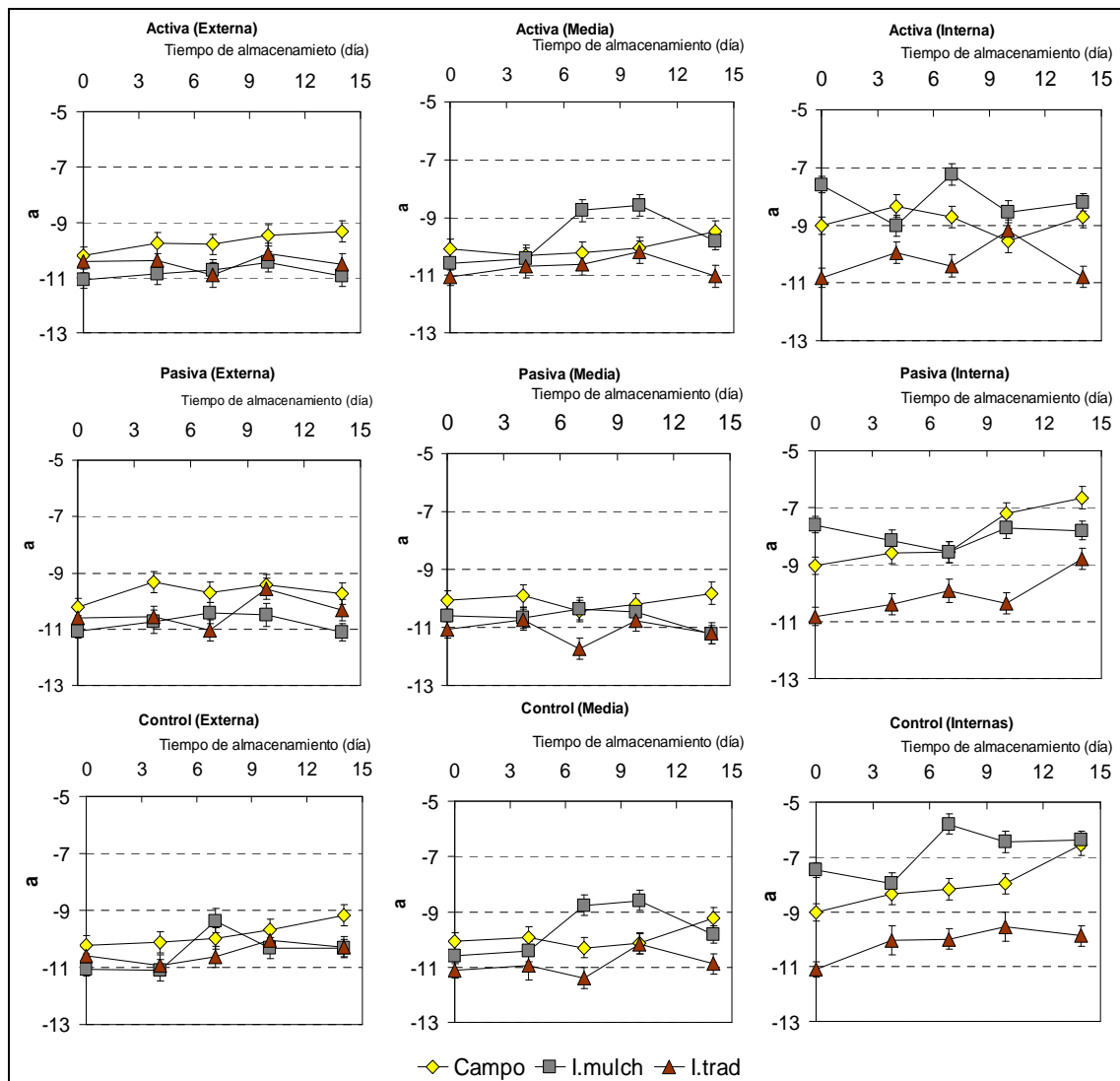


Figura 24: Evolución del parámetro de color a^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación en la planta (E: externa, M: media e I: interna) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

En la Figura 25 se muestra la evolución del parámetro b^* en las plantas de lechuga almacenadas en atmósferas modificadas, según el método de cultivo empleado y la zona dentro de la planta. A partir del análisis de la varianza del

parámetro b^* se observó una interacción cuádruple no significativa ($p = 0.1157$) mientras que dos de las interacciones triples resultaron significativas.

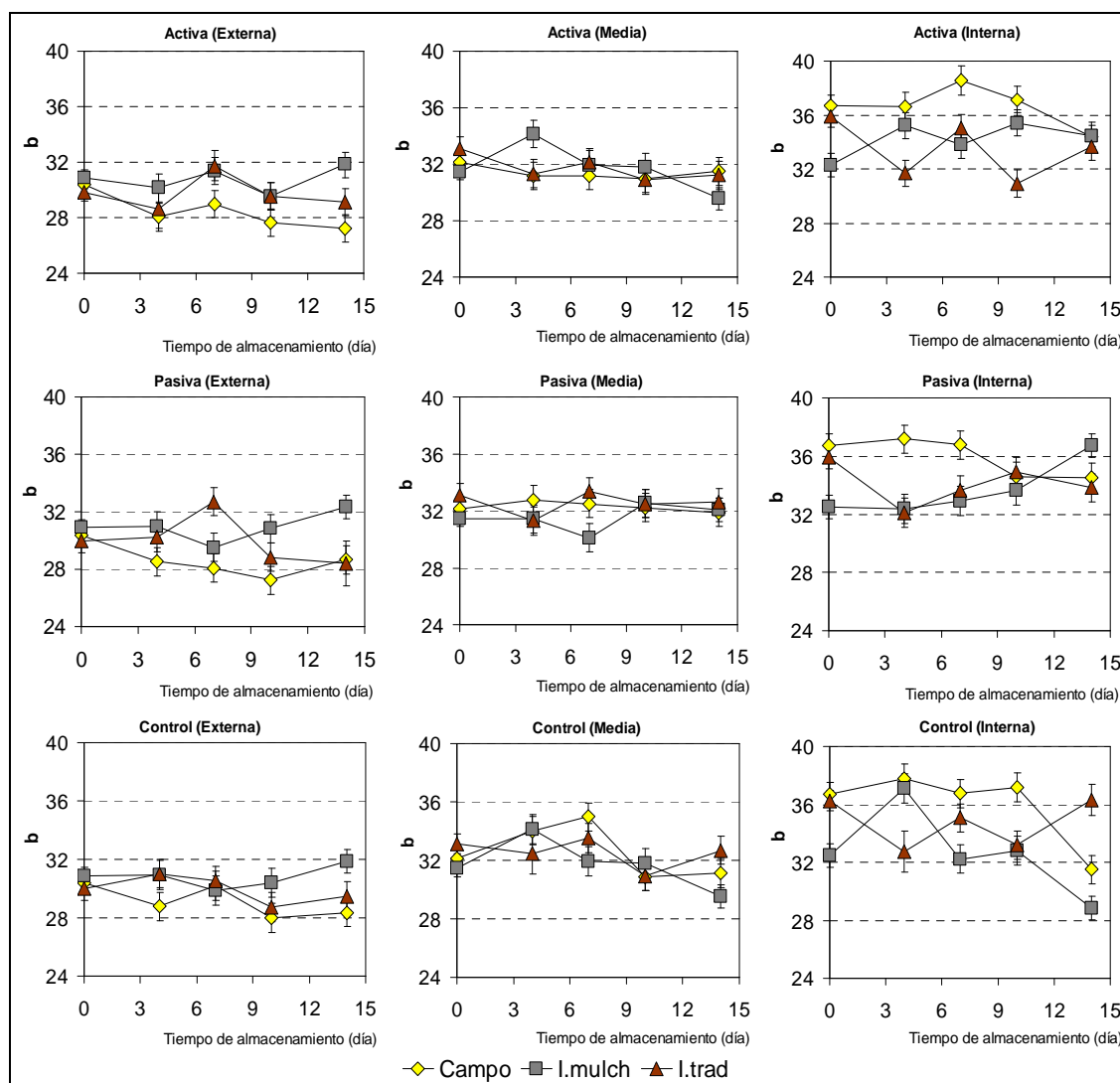


Figura 25: Evolución del parámetro de color b^* en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

La interacción triple entre los factores día, método de cultivo y zona resultó significativa ($p < 0.0001$). Las correspondientes comparaciones de las medias estimadas se muestran en la Tabla 22. En la zona externa, las plantas de campo presentaron valores del parámetro b^* menores a los correspondientes a las plantas de invernadero. Al final del almacenamiento, las hojas de las plantas de campo presentaron en el parámetro b^* una disminución del 7 % respecto del valor al

momento de la cosecha. El parámetro b^* en las plantas provenientes de invernadero se mantuvo relativamente constante durante todo el almacenamiento, excepto al día 14 en las plantas de I.mulch donde se observó un incremento del 3.7 % respecto del momento de la cosecha.

Tabla 22: Comparaciones de las medias del parámetro de color b^* en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la planta (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Zona externa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 30.38 ^{Aa} | 30.88 ^{Aa} | 29.94 ^{Aa} |
| 4 | 28.44 ^{Ba} | 30.70 ^{Ab} | 29.94 ^{Aab} |
| 7 | 29.10 ^{Ba} | 30.24 ^{Aab} | 31.67 ^{Bb} |
| 10 | 27.64 ^{Ca} | 30.26 ^{Ab} | 29.04 ^{Aab} |
| 14 | 28.09 ^{BCa} | 32.02 ^{Bb} | 29.25 ^{Aa} |
| Zona media | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 32.15 ^{Aa} | 31.45 ^{Aa} | 33.11 ^{Aa} |
| 4 | 32.66 ^{Aa} | 32.12 ^{Aa} | 31.70 ^{Aa} |
| 7 | 32.89 ^{Aa} | 31.12 ^{Ab} | 34.00 ^{Aa} |
| 10 | 31.37 ^{Aa} | 32.21 ^{Aa} | 31.42 ^{Aa} |
| 14 | 31.50 ^{Aa} | 31.05 ^{Aa} | 32.16 ^{Aa} |
| Zona interna | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 36.71 ^{Aa} | 32.47 ^{Ab} | 36.02 ^{Aa} |
| 4 | 37.19 ^{Aa} | 34.90 ^{Bb} | 32.18 ^{Bc} |
| 7 | 37.36 ^{Aa} | 32.97 ^{ABb} | 35.91 ^{Ac} |
| 10 | 36.31 ^{Ba} | 33.94 ^{ABb} | 33.01 ^{Bb} |
| 14 | 33.46 ^{Ca} | 33.33 ^{ABa} | 34.59 ^{ABa} |

En la zona media, el parámetro b^* se mantuvo relativamente constante durante el almacenamiento, sin diferencias significativas entre las plantas obtenidas por los diferentes métodos de cultivo. En la zona interna, las plantas de invernadero mantuvieron el valor del parámetro b^* relativamente constante durante el almacenamiento, aunque se observó una gran variabilidad en los mismos. En la zona interna de las plantas provenientes de campo se observó una leve disminución (9 %) del parámetro b^* al día 14 respecto del valor inicial.

La disminución del parámetro b^* puede ser atribuida al oscurecimiento de las hojas de lechuga, principalmente asociado al desarrollo de manchas por pardeamiento enzimático. En base a esto, las hojas externas de las plantas de campo presentarían mayor índice de pardeamiento que las hojas de la zona media e interna de las mismas plantas. Similares conclusiones se podrían sacar para la zona interna, donde también se observaron valores de b^* superiores en las plantas de campo.

La interacción triple entre los factores día, método de cultivo y tipo de atmósfera resultó significativa ($p = 0.0009$). En los tres tipos de envase estudiados, las plantas provenientes de campo mostraron una evolución similar en la que el parámetro b^* disminuye hacia el final del almacenamiento respecto del valor al momento de la cosecha (Tabla 23). En las plantas envasadas en atmósfera activa dicha disminución fue del 6 %, en las de atmósfera pasiva 4 %, mientras que en los envases con atmósfera control disminuyó 8 %.

En los envases con atmósfera modificada activa, las plantas de I.mulch mostraron un leve incremento del parámetro b^* , alcanzando al final del almacenamiento (día 14) un incremento del 5 % respecto de la cosecha (Tabla 23). En cambio, las plantas provenientes de I.trad mostraron un comportamiento similar al de las plantas de campo, en el que en los últimos días del almacenamiento el valor del parámetro b disminuyó 6 % respecto del valor obtenido al momento de la cosecha. Tanto en los envases con atmósfera pasiva como en los envases con atmósfera control, las plantas provenientes de I.trad, presentaron valores relativamente constantes de b^* durante el almacenamiento. En cambio, para las plantas provenientes de I.mulch, el envasado en atmósfera pasiva provocaría un incremento en el valor del parámetro b^* al final del período de almacenamiento cercano al 7 %.

Por otro lado, dicho parámetro se mantuvo constante en las plantas de l.mulch almacenadas en atmósfera control.

Tabla 23: Comparaciones de las medias del parámetro de color **b*** en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 33.08 ^{Aa} | 31.60 ^{Aa} | 32.99 ^{Aa} |
| 4 | 31.93 ^{ABa} | 32.05 ^{ABa} | 30.54 ^{Bb} |
| 7 | 32.91 ^{ABa} | 30.49 ^{Ab} | 32.97 ^{Aa} |
| 10 | 31.93 ^{ABa} | 32.43 ^{Ba} | 30.45 ^{Bb} |
| 14 | 31.03 ^{Ba} | 32.62 ^{Bb} | 31.33 ^{ABa} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 33.08 ^{Aa} | 31.60 ^{Aa} | 32.99 ^{Aa} |
| 4 | 32.82 ^{Aa} | 31.60 ^{Aa} | 31.20 ^{Ba} |
| 7 | 32.45 ^{ABab} | 30.83 ^{Aa} | 33.56 ^{Ab} |
| 10 | 31.36 ^{Ba} | 32.32 ^{ABa} | 32.08 ^{ABa} |
| 14 | 31.70 ^{ABa} | 33.71 ^{Bb} | 31.85 ^{ABa} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 33.08 ^{Aa} | 31.60 ^{Aa} | 32.99 ^{Aa} |
| 4 | 33.54 ^{Aab} | 34.06 ^{Ba} | 32.08 ^{Ab} |
| 7 | 33.98 ^{Aa} | 32.01 ^{Ab} | 33.05 ^{Aab} |
| 10 | 32.03 ^{Ba} | 31.66 ^{Aa} | 30.94 ^{Ba} |
| 14 | 30.33 ^{Ca} | 30.07 ^{Aa} | 32.82 ^{Ab} |

El incremento del parámetro b^* durante el almacenamiento, observado solamente en las plantas de I.mulch (zona externa e interna) indicaría el amarillamiento de las hojas de lechuga. En las plantas provenientes de campo e I.trad, también se observó una disminución en el contenido de clorofila, tal como puede observarse más adelante (Figura 28) durante el almacenamiento, lo que debería estar reflejado en el incremento del parámetro b^* . Sin embargo, en estas plantas (campo y I.trad) fue significativo el incremento del pardeamiento enzimático en las hojas durante el almacenamiento lo que podría ser causante de que el parámetro b^* no evolucione de la misma manera que en las plantas de I.mulch, en las que el pardeamiento enzimático en las hojas fue menor (Figura 37). Es posible entonces que las manchas pardas enmascaren el deterioro del color de las hojas por el amarillamiento.

Una lechuga con buen color tendría que presentar valores altos de L , que indiquen una buena luminosidad (Vega-Gálvez *et al.*, 2008), valores negativos de a (indicando color verde de las hojas) y valores positivos de b^* pero no muy grandes indicando poco amarillamiento de las hojas y pocas manchas debido al pardeamiento enzimático (Tano *et al.*, 2007). En el presente trabajo, los niveles de O_2 fueron siempre superiores al límite requerido para que se desencadene la respiración anaeróbica ($P_{O_2} > 1$ KPa) por lo que no se atribuyen los cambios de color en las hojas a desórdenes fisiológicos, sino a los procesos metabólicos normales del tejido vegetal senescente.

Si bien otros estudios han encontrado que el almacenamiento de los vegetales en atmósferas modificadas, combinada con el almacenamiento refrigerado, es el tratamiento más efectivo para mantener el color durante el almacenamiento postcosecha (Gil *et al.*, 2002; González-Aguilar *et al.*, 2004) casi todos ellos trabajan con temperaturas superiores (entre 5 y 10 °C). En el presente trabajo, el efecto de la atmósfera de empaque sobre la evolución del color en las plantas de lechuga manteca podría haberse visto enmascarada por la baja temperatura utilizada durante el almacenamiento (0 – 2 °C), ya que esta es la variable operativa de mayor impacto en el color (Tano *et al.*, 2007).

b. Índice de Color

En la Figura 26 se muestra la evolución del IC de lechuga manteca almacenadas en distintas atmósferas, según el método de cultivo y la zona. En ella se

observa claramente la diferencia entre zonas, donde la zona externa y media muestran valores menores (color más verde) que la zona interna con valores menores (verde más amarillento).

El análisis estadístico de los datos correspondientes al IC arrojó como resultado que la interacción cuádruple de los factores en estudio resultó no significativa ($p = 0.1079$) mientras que dos de las interacciones triples sí resultaron significativas (ambas con $p < 0.0001$).

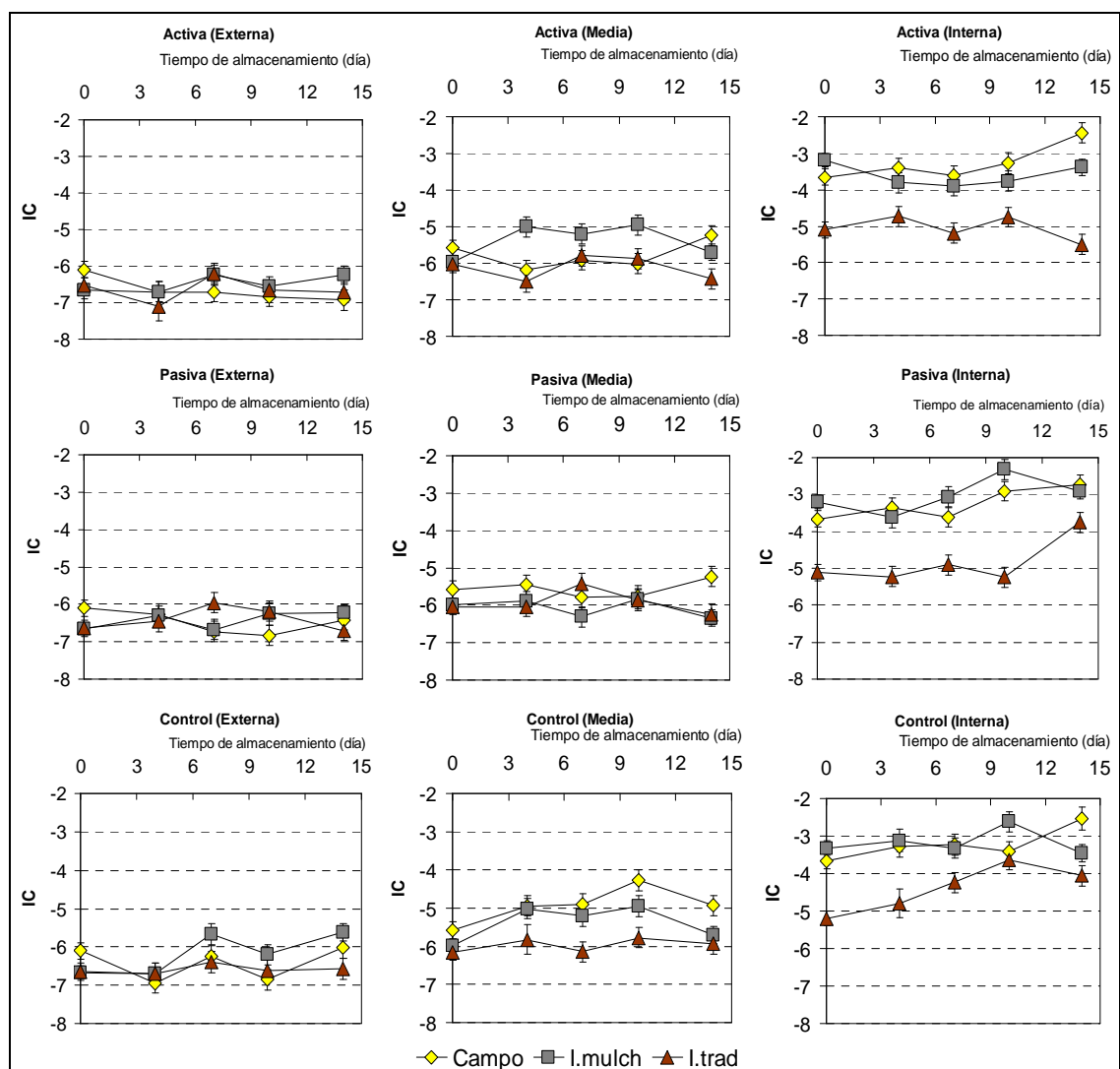


Figura 26: Evolución del índice de color (IC) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

En la Tabla 24 se muestran las comparaciones de las medias obtenidas para la interacción triple entre el día, método de cultivo y zona en la planta. En general, no se observaron diferencias significativas en los valores de IC para los diferentes métodos de cultivo en la zona externa y media, con valores aproximados de - 6.5 y - 5.5, respectivamente. Sólo en la zona interna, las plantas de invernadero presentaron diferencias significativas en el valor del IC, donde las plantas de I.trad presentaron valores de IC menores (más negativos) lo que indicaría un color verde más intenso. Este resultado es concordante con lo presentado en el capítulo anterior, donde se encontró mediante el análisis por anillos que las plantas de I.trad presentan un color más uniforme.

Durante el almacenamiento, el IC en la zona externa de las plantas de campo se incrementó a partir del día 4, mientras que en las plantas de I.mulch se observó una disminución en el IC. En las plantas de I.trad, el IC se mantuvo relativamente constante, con un valor medio de - 6.54. Si bien al momento de la cosecha, el IC de las plantas de invernadero no resultó significativamente diferente, si lo fue al final del almacenamiento en donde las plantas de I.mulch presentaron un valor casi 10 % menor. Esta disminución es coincidente con los resultados presentados al analizar el parámetro b^* aisladamente (Tabla 22).

En la zona media, la evolución del IC mostró pocas diferencias según el método de cultivo analizado y se mantuvo relativamente constante durante el almacenamiento. El IC en la zona media de las plantas provenientes de campo presentó un valor medio de - 5.56, hasta el día 14 donde el valor de - 5.14 representa un incremento del 8 %. En las plantas de I.mulch no se observó una tendencia clara y en las plantas de I.trad el IC se conservó casi constante durante todo el almacenamiento. En ambos casos el valor al día 14 no difirió significativamente del valor correspondiente al momento de la cosecha.

La evolución del IC en las hojas de la zona interna de las plantas provenientes de I.mulch resultó constante, con un valor medio de - 3.34. En cambio, las plantas provenientes de campo y I.trad llegan al final del almacenamiento con valores de IC mayores a los del momento de la cosecha. En las plantas de campo, el incremento en IC al día 14 es del 30 %, mientras que las plantas provenientes de I.trad el aumento al día 14 llegó a ser del 14 %, siempre respecto del valor al momento de la cosecha.

La interacción triple entre los factores día, método de cultivo y tipo de atmósfera también resultó significativa. Sin embargo, salvo diferencias puntuales, el comportamiento general del IC en cada uno de los tipos de atmósfera fue similar (Tabla 25). En todos ellos las plantas de I.trad presentaron valores de IC menores a los de las plantas de campo e I.mulch, por lo que se puede afirmar que se mantuvieron con el color verde más intenso, similar al que presentaban al momento de la cosecha. Por su lado, la evolución del IC en las plantas de campo e I.mulch mostró tendencias similares, siendo el IC de las plantas de campo levemente superior al de las plantas de I.mulch al ser almacenadas en atmósfera modificada (activa o pasiva). En los envases con atmósfera control, el IC en las plantas de campo disminuye al día 14 un 12 % respecto del valor a la cosecha, mientras que se mantuvo en las plantas de I.mulch.

El ajuste obtenido para las medias estimadas del IC en función del método de cultivo y el tipo de atmósfera durante el almacenamiento se muestra en la Figura 27. El modelo obtenido no fue lineal cuando las plantas se almacenaron en atmósferas modificadas (activa o pasiva) sino que el mejor ajuste se obtuvo para una función constante. En ambos tipos de atmósfera se obtuvieron conclusiones similares a las presentadas previamente: las plantas de campo e I.mulch presentaron valores similares (- 5.25 como valor medio para el envasado en atmósfera activa y - 5.23 para atmósfera pasiva) mientras que las plantas de I.trad presentaron valores de IC menores (- 5.94 en ambos tipos de atmósfera).

En las plantas envasadas en atmósfera control, el IC sí mostró una evolución significativa ($p < 0.1$) respecto del día de almacenamiento (Figura 27). Analizando la igualdad o no de las ordenadas al origen de las funciones lineales obtenidas se obtienen resultados similares a los anteriores, el IC de las plantas de campo e I.mulch es similar (- 5.13 como valor medio) y el correspondiente a las plantas de I.trad es significativamente menor (- 5.93). Respecto a las pendientes, no se encontraron diferencias significativas entre los métodos de cultivo, por lo que el mejor modelo es el que presenta una misma pendiente (igual tasa de cambio en el valor del IC) en los tres casos.

Tabla 24: Comparaciones de las medias del índice de color (IC) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la planta (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Zona externa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | -6.10 ^{Aa} | -6.66 ^{Ab} | -6.60 ^{Ab} |
| 4 | -6.64 ^{Ba} | -6.56 ^{Aa} | -6.76 ^{Aa} |
| 7 | -6.56 ^{Ba} | -6.19 ^{Bb} | -6.19 ^{Bb} |
| 10 | -6.84 ^{Ba} | -6.34 ^{ABb} | -6.49 ^{ABb} |
| 14 | -6.46 ^{Ba} | -6.02 ^{Bb} | -6.66 ^{Aa} |
| Zona media | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | -5.58 ^{Aa} | -5.98 ^{Ab} | -6.08 ^{Ab} |
| 4 | -5.53 ^{Aa} | -5.54 ^{Ba} | -6.12 ^{Ab} |
| 7 | -5.54 ^{Aa} | -5.77 ^{ABa} | -5.79 ^{Aa} |
| 10 | -5.62 ^{Aab} | -5.29 ^{Ba} | -5.84 ^{Ab} |
| 14 | -5.14 ^{Ba} | -6.02 ^{Ab} | -6.20 ^{Ab} |
| Zona interna | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | -3.66 ^{Aa} | -3.24 ^{Ab} | -5.14 ^{Ac} |
| 4 | -3.02 ^{Ba} | -3.52 ^{ABb} | -4.92 ^{Ac} |
| 7 | -3.49 ^{Aa} | -3.76 ^{Ba} | -4.44 ^{Bb} |
| 10 | -3.20 ^{Ba} | -2.90 ^{Aa} | -4.54 ^{Bb} |
| 14 | -2.57 ^{Ca} | -3.25 ^{Ab} | -4.44 ^{Bc} |

Tabla 25: Comparaciones de las medias del índice de color (IC) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en los distintos tipos de atmósfera (activa, pasiva y control). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | -5.11 ^{ABa} | -5.28 ^{Aa} | -5.89 ^{ABb} |
| 4 | -5.43 ^{Aa} | -5.41 ^{Aa} | -6.12 ^{Ab} |
| 7 | -5.41 ^{Aab} | -5.32 ^{Aa} | -5.73 ^{ABb} |
| 10 | -5.37 ^{Aab} | -5.14 ^{Aa} | -5.76 ^{ABb} |
| 14 | -4.87 ^{ABa} | -5.22 ^{Ab} | -6.21 ^{ABc} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | -5.11 ^{ABa} | -5.28 ^{Aa} | -5.89 ^{ABb} |
| 4 | -4.70 ^{Aa} | -5.28 ^{Ab} | -5.90 ^{Ac} |
| 7 | -5.38 ^{ABa} | -5.68 ^{Ba} | -5.70 ^{ABa} |
| 10 | -5.17 ^{ABa} | -5.14 ^{ABa} | -5.76 ^{ABb} |
| 14 | -4.80 ^{Aa} | -5.16 ^{ABa} | -5.57 ^{Bb} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | -5.11 ^{Aa} | -5.28 ^{Aa} | -5.89 ^{Ab} |
| 4 | -5.05 ^{Aa} | -4.94 ^{ABa} | -5.78 ^{Ab} |
| 7 | -4.79 ^{Aa} | -4.73 ^{Ba} | -5.59 ^{ABb} |
| 10 | -4.81 ^{Aa} | -4.26 ^{Cb} | -5.34 ^{Bc} |
| 14 | -4.49 ^{Ba} | -4.92 ^{ABb} | -5.51 ^{Bc} |

El envasado en atmósfera modificada contribuiría al mantenimiento del índice de color en las plantas de lechuga durante el almacenamiento. Sin embargo, el método de cultivo empleado para la producción de las plantas tiene una importancia significativa en la calidad visual de las mismas ya que, aún con el uso de las diferentes tecnologías postcosecha, solo fue posible mantener el color que las plantas tuvieron al momento de la cosecha. El uso de invernaderos tradicionales produce plantas de lechuga de color verde más intenso que se mantuvo durante el almacenamiento.

Las plantas provenientes de campo e I.mulch presentan menor IC que las de I.trad. Sin embargo, sería necesario aclarar que el IC es menor en las plantas de campo posiblemente por amarillamiento debido al exceso de radiación que han recibido durante su desarrollo (según la evaluación realizada por los jueces durante la evaluación sensorial, Figura 41) y al pardeamiento enzimático (Figura 37). En cambio, el IC de las plantas de I.mulch resultaría menor debido a que la presencia del *mulch* negro, sumada a la selectividad de onda de los materiales de cobertura empleados en el invernadero, generan cambios en la integral de radiación que recibe la planta durante el desarrollo, lo que podría influir sobre la calidad y cantidad de pigmentos presentes en la hoja.

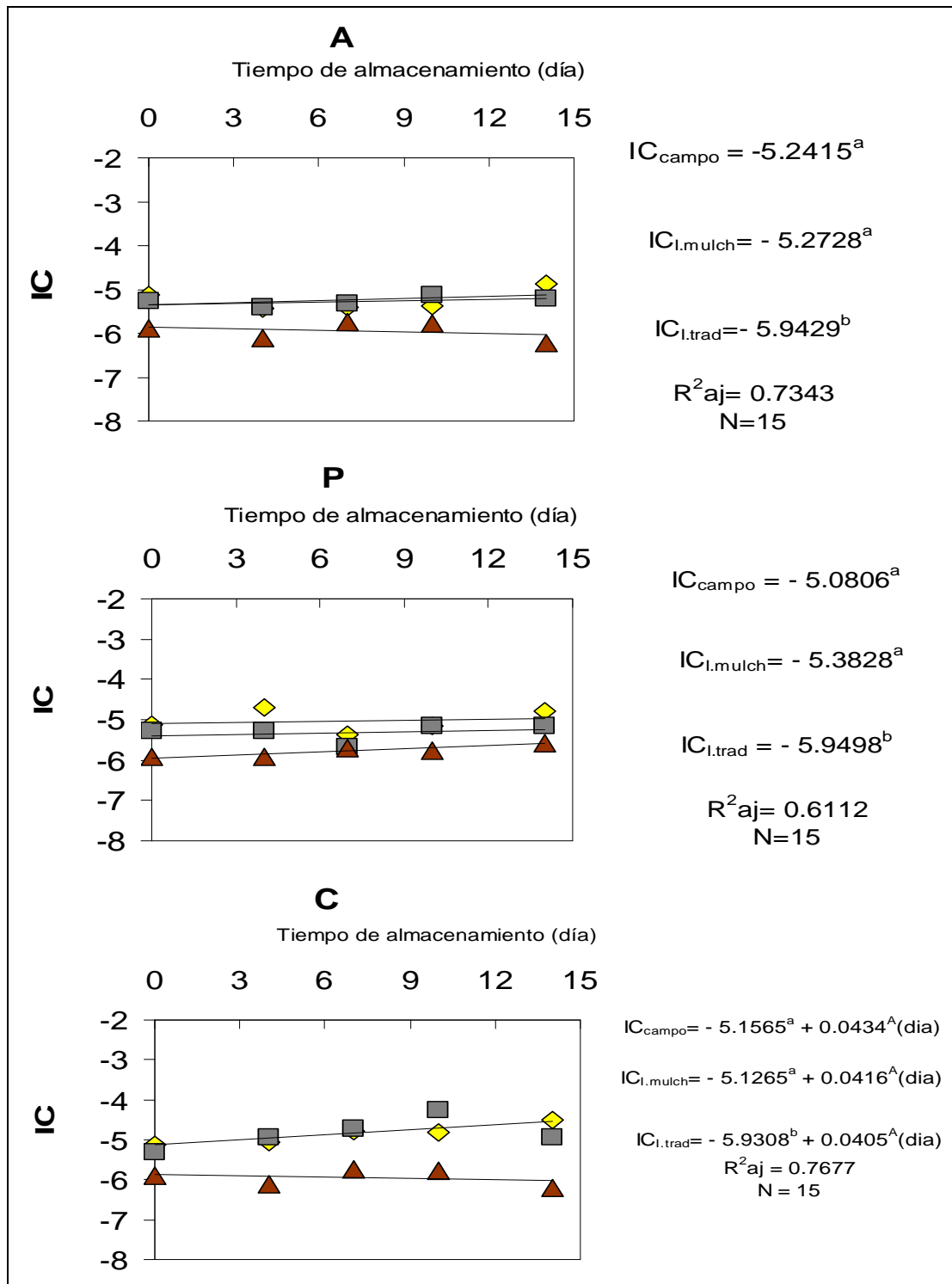


Figura 27: Ajuste lineal de las medias estimadas del consumo de O₂ de lechuga manteca, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de la media por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$ * $p < 0.1$).

5. Contenido de clorofila

La evolución del contenido de clorofila (CLO) durante el almacenamiento en atmósfera modificada de lechuga manteca se muestra en la Figura 28. En todos los tipos de envase se observaron tendencias similares, en las que CLO disminuye durante el almacenamiento, lo que fue confirmado mediante el análisis estadístico en el cual resultaron no significativas la interacción cuádruple ($p = 0.9829$) y las interacciones triples ($p > 0.3$ en todas ellas). Las interacciones dobles que incluían el factor tipo de envase resultaron no significativas ($p > 0.4$) como así también el efecto principal tipo de envase ($p = 0.4993$). De acuerdo a estos resultados se puede concluir que la modificación de la atmósfera (reducción del contenido de O_2 dentro del envase) combinado con el almacenamiento refrigerado en condiciones óptimas ($0 - 2\text{ }^\circ\text{C}$ y 98% HR) no tuvo efecto sobre la evolución del contenido de clorofila en las plantas de lechuga manteca.

La interacción doble entre los factores método de cultivo y zona resultó significativa ($p = 0.0016$) indicando que según sea el método de cultivo utilizado, diferente es el CLO en cada zona. En todos los métodos de cultivo, la zona externa presentó mayor CLO que la zona media y que la interna (Tabla 26). En la zona externa, las plantas de I.mulch presentaron un CLO intermedio entre el correspondiente a la misma zona en las plantas de I.trad y campo. Sin embargo, en la zona media e interna, CLO fue mayor en las plantas de campo que en las plantas de invernadero (sin diferencias significativas entre estas últimas).

La interacción doble que relaciona los factores método de cultivo y día fue significativa ($p < 0.0001$) indicando un comportamiento diferenciado de la evolución de CLO en las plantas de campo, I.trad o I.mulch durante el almacenamiento. El CLO de las plantas provenientes de campo fue siempre significativamente superior al de las plantas de invernadero (Tabla 27). Por otro lado, al inicio del almacenamiento, las plantas de invernadero presentaron valores de CLO similares entre sí pero sólo hasta el día 14, donde las plantas de I.trad presentaron menores contenidos en CLO que las plantas de I.mulch. Las plantas de I.trad fueron las que perdieron mayor cantidad de CLO durante el almacenamiento (36 %) respecto del contenido inicial, mientras que en las de campo e I.mulch la reducción fue del 28 y 23 %, respectivamente.

Para los factores día y zona, la interacción doble también resultó significativa ($p = 0.0345$). Las hojas de la zona media presentaron, durante todo el almacenamiento, valores intermedios a los de la zona externa e interna (Tabla 28). El CLO disminuyó durante el almacenamiento en las tres zonas. Al día 14, fue la zona interna la que presentó mayor disminución respecto del contenido inicial (54.3 %).

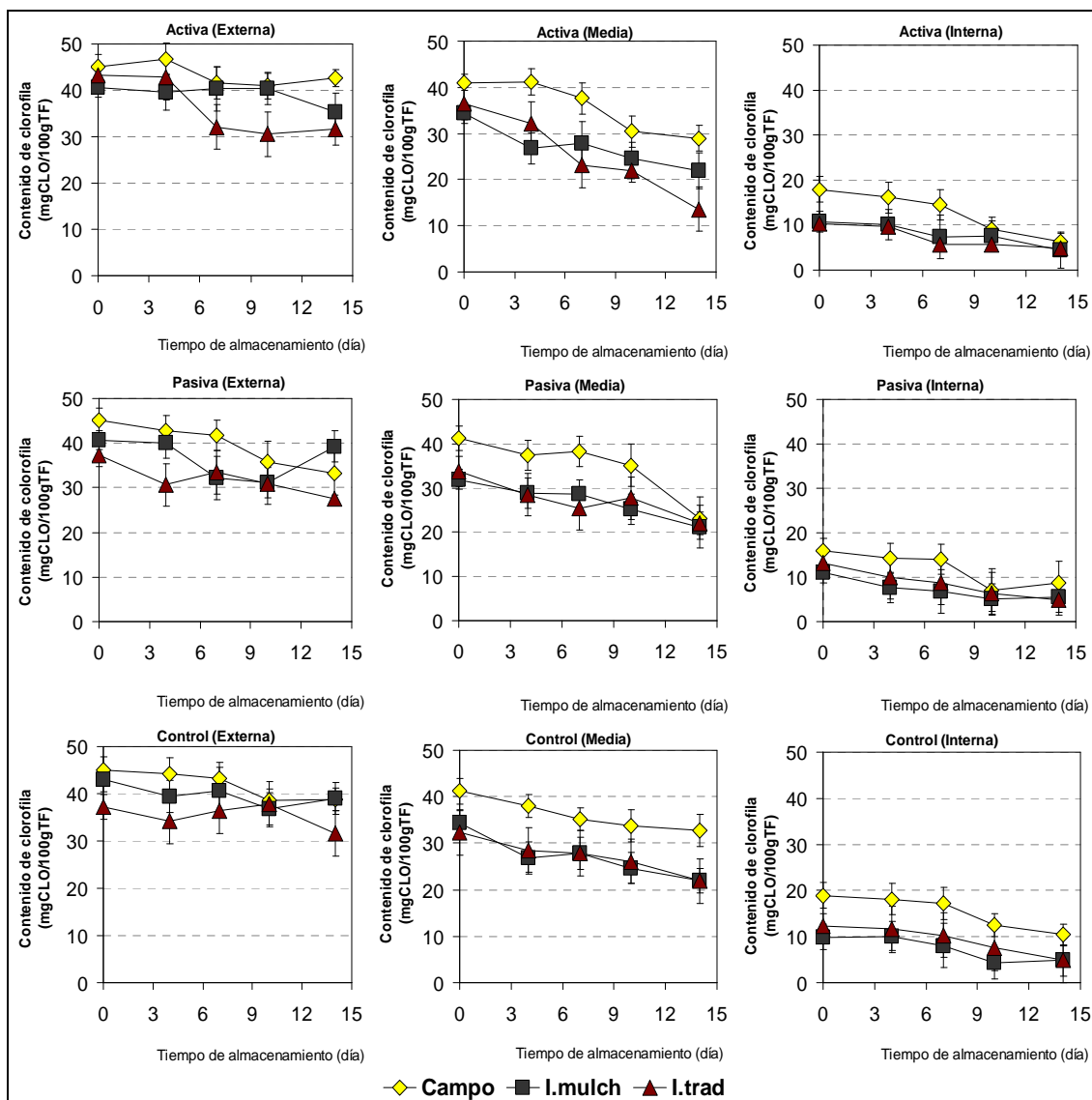


Figura 28: Evolución del contenido en clorofila (CLO) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Tabla 26: Comparaciones de las medias del contenido en clorofila (CLO, mg CLO/ 100 g TF) en lechuga manteca para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 41.69 ^{Aa} | 38.56 ^{Aa} | 34.48 ^{Ab} |
| Media | 35.68 ^{Ba} | 27.27 ^{Bb} | 26.75 ^{Bb} |
| Interna | 13.40 ^{Ca} | 7.55 ^{Cb} | 8.40 ^{Cb} |

Tabla 27: Comparaciones de las medias del contenido en clorofila (CLO, mg CLO/ 100 g TF) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 34.59 ^{Aa} | 28.24 ^{Ab} | 28.46 ^{Ab} |
| 4 | 33.21 ^{Aa} | 25.70 ^{ABb} | 25.35 ^{ABb} |
| 7 | 31.49 ^{Aa} | 24.48 ^{Bb} | 22.54 ^{BCb} |
| 10 | 27.02 ^{Ba} | 22.07 ^{Bb} | 21.63 ^{Cb} |
| 14 | 24.99 ^{Ba} | 21.83 ^{Bb} | 18.08 ^{Dc} |

Tabla 28: Comparaciones de las medias del contenido en clorofila (CLO, mg CLO/ 100 g TF) en lechuga manteca para la interacción día y zona (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Zona | EXTERNA | MEDIA | INTERNA |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 41.91 ^{Aa} | 36.02 ^{Ab} | 13.36 ^{Ac} |
| 4 | 40.06 ^{ABa} | 32.25 ^{Bb} | 11.95 ^{Ac} |
| 7 | 37.96 ^{BCa} | 30.26 ^{Bb} | 10.29 ^{ABc} |
| 10 | 35.89 ^{Ca} | 27.62 ^{Cb} | 7.21 ^{Bc} |
| 14 | 35.42 ^{Ca} | 23.37 ^{Db} | 6.11 ^{Bc} |

El perfil de la evolución del CLO obtenido para las plantas de lechuga manteca según el método de cultivo utilizado pudo ser ajustado mediante una función lineal (Figura 29). Roura *et al.* (2000) trabajando con acelga (*Beta vulgaris v. cyclo*) encontraron un comportamiento similar para la degradación de CLO. Las pendientes correspondientes a las lechugas de campo e I.trad no fueron significativamente diferentes ($p = 0.8850$) indicando una tasa de degradación de CLO similar entre ambas. Por su parte, en las plantas de I.mulch, la pendiente de la evolución diaria del contenido de CLO fue significativamente menor ($p = 0.0005$) que en plantas de campo y I.trad.

La tasa de degradación de CLO en las plantas de I.mulch fue 48 % menor respecto a la tasa media de las plantas de campo e I.trad. Las plantas de campo presentaron mayor contenido inicial de CLO, comparado con las plantas provenientes de invernadero ($p < 0.0001$). Sin embargo, las diferencias observadas durante el almacenamiento indicaron que el pigmento en las plantas de I.mulch se degrada a una velocidad menor que en las plantas de campo e I.trad.

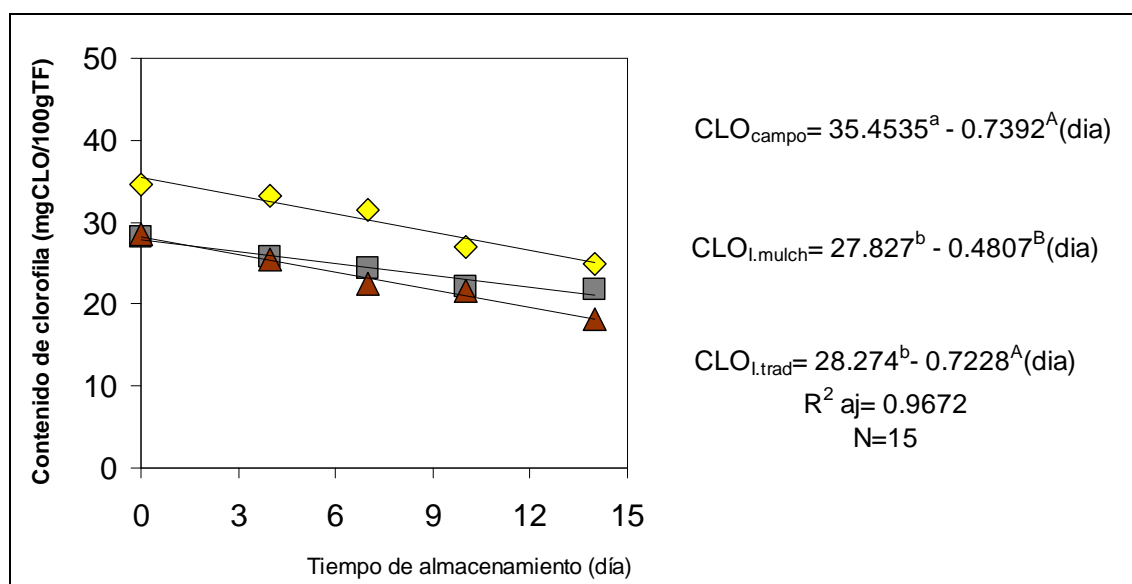


Figura 29: Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido de clorofila (CLO) en hojas de lechuga manteca, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden a los estimadores de la media por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$).

6. Contenido de ácido ascórbico reducido

En la Figura 30 se muestran los perfiles de la evolución del contenido de ácido ascórbico (AA) en lechuga manteca durante el almacenamiento en atmósfera modificada, según el método de cultivo y la zona dentro de la planta. En todas las condiciones en estudio se observó una disminución del AA conforme avanzó el almacenamiento.

El ácido ascórbico es un compuesto sumamente lábil, que se degrada por varios factores, tanto ambientales como propios del metabolismo vegetal. Por esta razón es ampliamente utilizado como indicador de la severidad del tratamiento al que es sometido el producto, expresándolo frecuentemente como retención de ácido ascórbico, correspondiente a la relación entre el AA al momento t y el AA al momento de la cosecha (AA/AA_0), en lugar de contenido de AA expresado como mg AA/ 100 g TF. Los perfiles de retención de AA en los diferentes tratamientos estudiados se muestran en la Figura 31.

La retención de un nutriente, como el ácido ascórbico en este caso, ha sido empleada en varias ocasiones como parámetro de comparación entre diferentes tratamientos, permitiendo seleccionar aquel que permite mantener un porcentaje mayor del nutriente al final del proceso. Sin embargo, en el caso particular del presente estudio, el análisis de los diferentes tratamientos, basado sólo en la retención, llevaría a conclusiones erróneas ya que los valores iniciales de AA en las plantas provenientes de distintos métodos de cultivo son significativamente diferentes (según lo expresado en el capítulo anterior referido a la calidad inicial). Aún cuando se observa en la Figura 31 una tendencia general que indicaría una mayor retención de AA al día 14 en las plantas l.mulch comparado con campo y l.trad, el contenido de AA no sería, en valor absoluto, significativamente diferente (Tabla 29). Desde el punto de vista de la calidad nutricional, el aporte total de ácido ascórbico es lo que realmente importa.

Las interacciones cuádruples y triples resultaron no significativas ($p > 0.05$). Las interacciones dobles que resultaron significativas fueron la que incluyó el factor día y método de cultivo ($p = 0.0028$) y la del factor día y zona ($p = 0.0010$). El factor tipo de

atmósfera no mostró interacción significativa con ninguno de los otros factores en estudio ni como efecto principal ($p = 0.1138$).

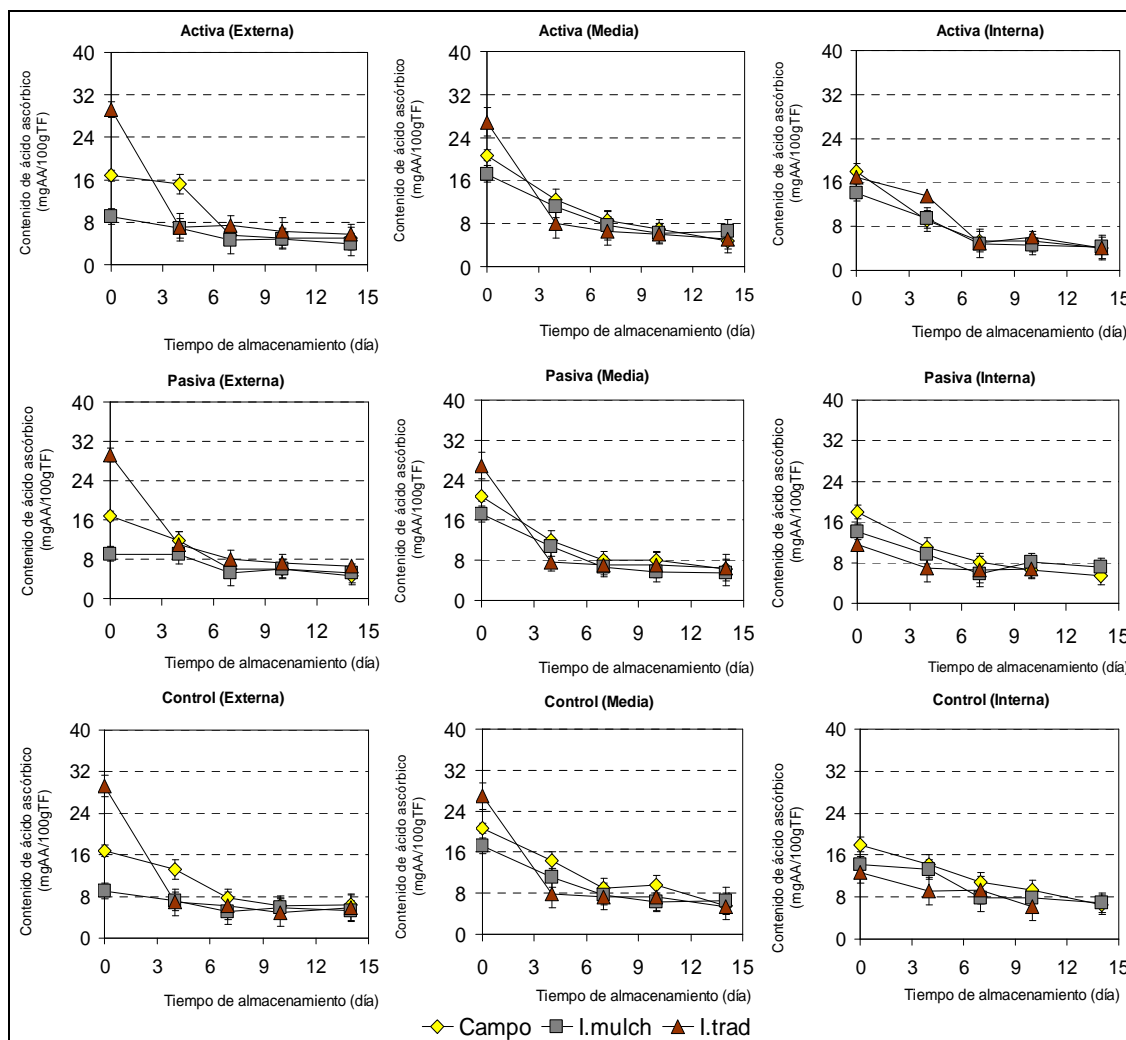


Figura 30: Evolución del contenido en ácido ascórbico (AA, mg AA/ 100 g TF) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Las comparaciones de las medias de la evolución del AA durante el almacenamiento de las plantas de lechuga, según el método de cultivo se muestran en la Tabla 29. Si bien al momento de la cosecha, las plantas de I.trad presentaron valores absolutos de AA superiores a los restantes métodos de cultivo, las plantas provenientes de campo mostraron la mayor retención de AA (31 % comparadas con las de invernadero) al día 4. Sin embargo, estas diferencias dejaron de ser

significativas al final del almacenamiento (día 14) donde el AA promedio para los tres métodos de cultivo fue de 5.52 mg AA/100 g TF, indicando una disminución del 70 %, 59 % y 77 % para campo, I.mulch e I.trad, respectivamente.

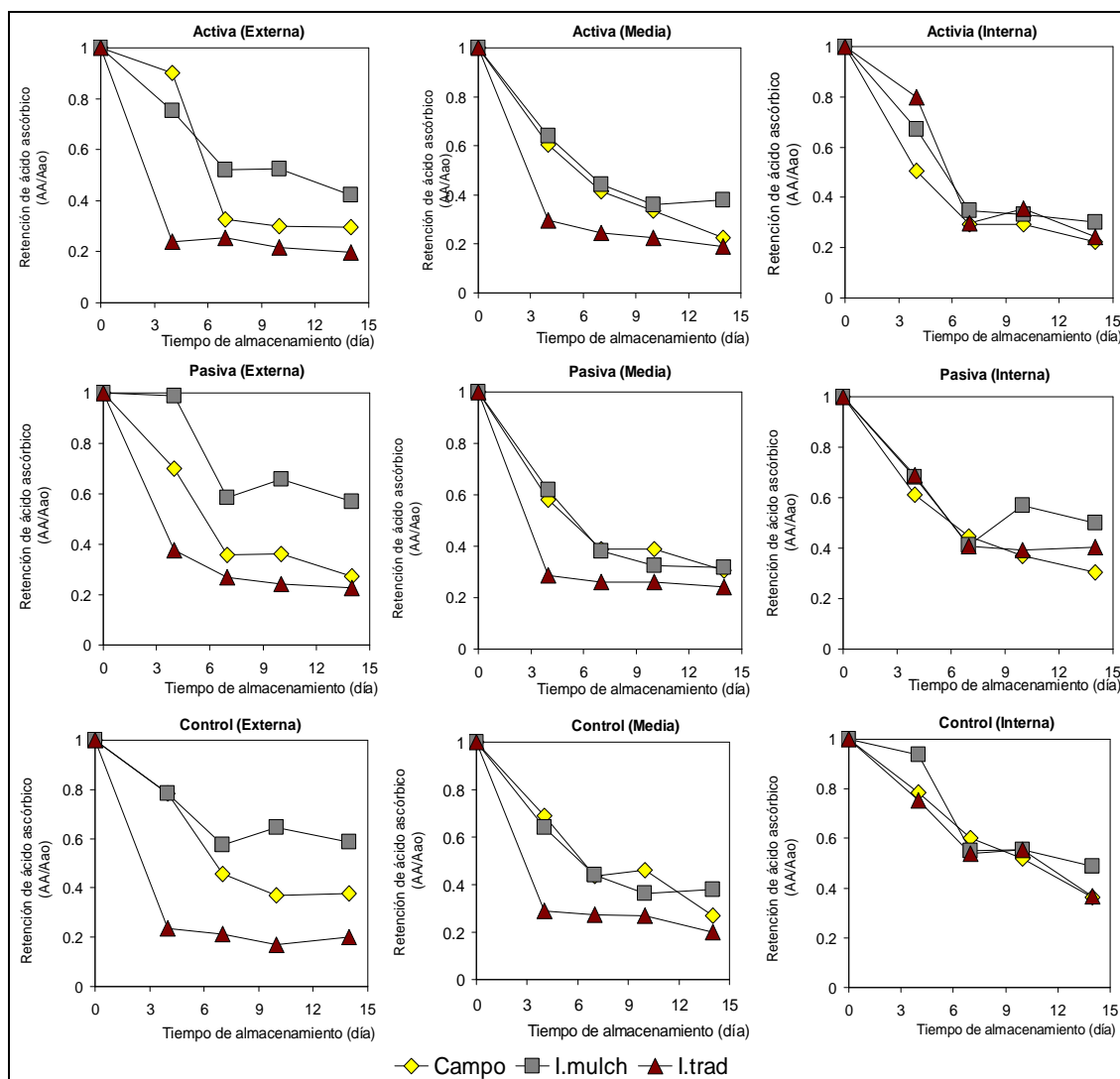


Figura 31: Evolución de la retención de ácido ascórbico (AA/AA₀) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados.

El AA presentó también un comportamiento diferencial a lo largo del almacenamiento en función de la ubicación de la hoja (zona). Las comparaciones del AA medio para cada zona durante el almacenamiento se muestran en la Tabla 30. Al momento de la cosecha, las hojas de la zona media presentaron valores de AA mayores que los de la zona externa, que a su vez fue mayor que el correspondiente a

la zona interna. Según lo expuesto en el capítulo correspondiente a la calidad inicial, el AA se relacionaría directamente con la exposición de las hojas a las condiciones ambientales y con la edad de la hoja (por su actividad metabólica y la relación anabolismo/catabolismo que varía durante el desarrollo y la senescencia de los tejidos). Durante el período de almacenamiento las diferencias del AA entre las diferentes zonas, expresadas como mg AA/ 100 g TF, dejan de ser significativas.

Tabla 29: Comparaciones de las medias del contenido en ácido ascórbico (AA, mg AA/ 100 g TF) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 18.50 ^{Aa} | 13.46 ^{Ab} | 24.37 ^{Ac} |
| 4 | 12.57 ^{Ba} | 9.58 ^{Bb} | 9.60 ^{Bb} |
| 7 | 7.67 ^{Ca} | 5.78 ^{Cb} | 7.08 ^{Ca} |
| 10 | 7.00 ^{Ca} | 5.89 ^{Cb} | 6.75 ^{Ca} |
| 14 | 5.39 ^{Da} | 5.35 ^{Ca} | 5.84 ^{Da} |

Tabla 30: Comparaciones de las medias del contenido en ácido ascórbico (AA, mg AA/ 100 g TF) en lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Zona | Externa | Media | Interna |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 18.35 ^{Aa} | 21.63 ^{Ab} | 16.36 ^{Ac} |
| 4 | 9.76 ^{Ba} | 10.37 ^{Bab} | 11.62 ^{Bb} |
| 7 | 6.21 ^{CBa} | 7.24 ^{Ca} | 7.08 ^{Ca} |
| 10 | 5.79 ^{Ca} | 6.76 ^{Ca} | 7.09 ^{Ca} |
| 14 | 5.39 ^{Ca} | 5.47 ^{Ca} | 5.72 ^{Ca} |

El tipo de atmósfera utilizado no fue significativo como efecto principal, con valores medios del contenido en AA similares (8.92, 10.26 y 9.78 mg AA/ 100 g TF para atmósfera activa, pasiva y control, respectivamente).

Al analizar la evolución del AA durante el almacenamiento refrigerado de las plantas de lechuga, según provengan de campo, I.mulch o I.trad se observó que los ajustes lineales no eran significativos ($p > 0.05$, datos no mostrados). Este resultado fue consistente con los resultados observados en la Figura 30, donde en los primeros días posteriores a la cosecha se produjo una disminución importante del AA. La evolución del AA puede ajustarse a un modelo exponencial de la forma: $AA = a \cdot e^{-b(\text{día})}$. Para poder realizar una regresión lineal se trabajó con el modelo linealizado: $\ln(AA) = \ln(a) - b \cdot \text{día}$. Los resultados obtenidos de la linealización y la regresión lineal posterior se muestran en la Figura 32.

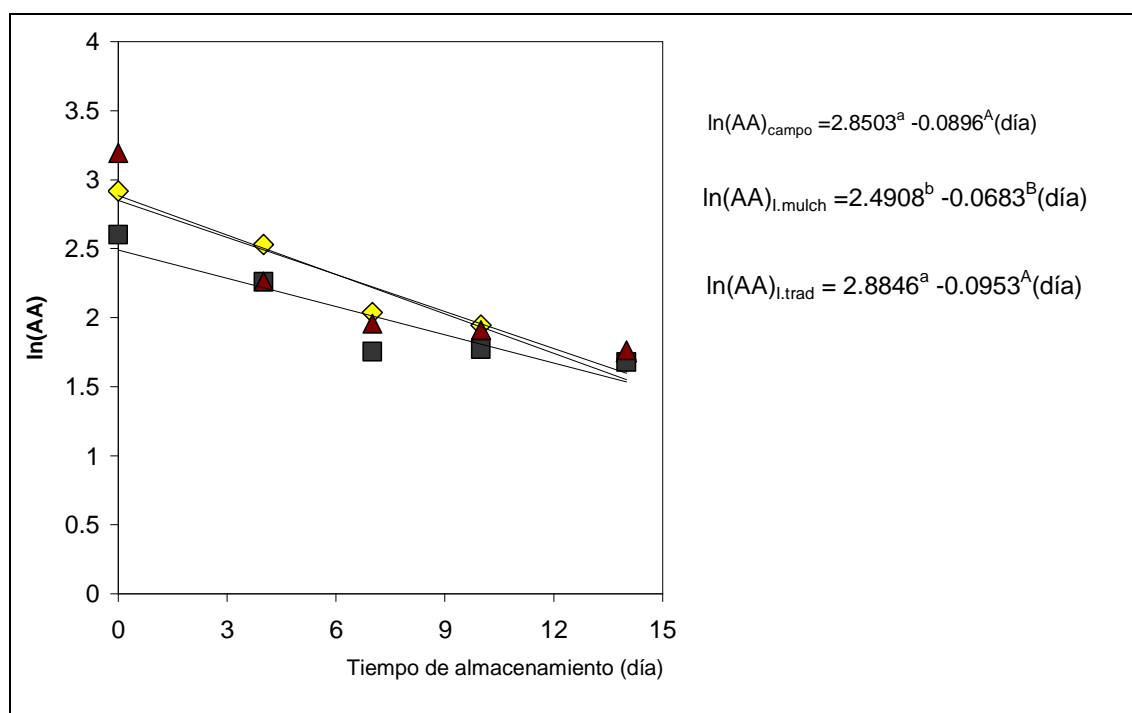


Figura 32: Ajuste lineal de las medias estimadas del contenido en ácido ascórbico, expresado como $\ln(AA)$, en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden al logaritmo natural de la media estimada por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los parámetros del modelo.

El $\ln(\text{AA})$ correspondiente a las plantas de l.mulch presentó diferencias significativas, tanto al momento de la cosecha como durante el almacenamiento, respecto de las plantas provenientes de campo y de l.trad ($p = 0.0015$). La tasa de disminución del $\ln(\text{AA})$ durante el almacenamiento de las plantas provenientes de l.mulch fue 1.3 veces menor a las de campo e l.trad. No se encontraron diferencias significativas en el $\ln(\text{AA})$ correspondientes a las plantas de campo o l.trad.

Los beneficios de la modificación de la atmósfera (reducción del $\%O_2$ en el envase) sobre la retención del AA han sido previamente reportados en varias oportunidades (Kader, 2002). Sin embargo, en el presente estudio, es importante tener en cuenta la baja temperatura de refrigeración utilizada durante el almacenamiento (0 - 2 °C). La temperatura tiene un efecto significativo sobre la retención de AA en los vegetales, siendo mayor la retención a menor temperatura (Barry-Ryan; O'Beirne, 1999) ya que la reducción de la actividad metabólica reduce la velocidad de las reacciones. An *et al.*, (2009) no encontraron diferencias significativas en el contenido de AA entre los valores correspondientes a atmósfera control y los de atmósfera modificada (con una reducción en el contenido de O_2 del 50% respecto de la control) almacenando a 3 °C frutillas (*Fragaria amanassa* Duchesne) y lechuga (durante 16 y 19 días respectivamente). En otro trabajo, la reducción de la temperatura de almacenamiento de 8 °C a 3 °C, provocó un aumento del 20 % en la retención de ácido ascórbico en lechuga mínimamente procesada almacenada durante 10 días, mientras que la modificación pasiva de la atmósfera no mostró diferencias significativas (Barry-Ryan; O'Beirne, 1999).

7. Recuentos microbiológicos

En concordancia con los resultados presentados en el capítulo anterior, los recuentos de bacterias aerófilas mesófilas totales (BAMT) al momento de la cosecha no fueron significativamente afectados según las plantas de lechuga fueron cultivadas en campo, I.trad o I.mulch (Figura 11) y fueron similares a los presentados por otros autores para vegetales de hoja (Allende *et al.*, 2004a; Allende *et al.*, 2004b).

La evolución de los recuentos de BAMT se muestra en la Figura 33, según el método de cultivo, tipo de atmósfera y la zona. Los recuentos durante el almacenamiento, al igual que al momento de la cosecha, presentaron una elevada variabilidad que no puede ser atribuida a la metodología empleada (Ponce *et al.*, 2002). El desarrollo microbiano se relaciona directamente con factores ambientales como con factores intrínsecos del tejido vegetal. La variabilidad biológica asociada a las diferentes plantas, manifestadas como diferencias fisiológicas y/o morfológicas del tejido, condicionarían el desarrollo de las diferentes poblaciones microbianas. El análisis de la varianza arrojó una interacción cuádruple significativa ($p = 0.0001$) lo que es consistente con las diferentes respuestas obtenidas para cada condición evaluada durante el almacenamiento. Si bien la variabilidad fue elevada, y la interacción cuádruple significativa complica la interpretación de los resultados para la asignación de efectos, en todos los casos, las tendencias muestran un incremento en los recuentos durante el almacenamiento. Resultados similares fueron presentados para hojas de espinaca almacenadas en atmósfera modificada por Allende *et al.* (2004b). El uso de atmósfera modificada, en general, logró una leve disminución en los recuentos de BAMT, posiblemente debido a la disminución del %O₂ y al incremento del %CO₂ en el espacio de cabeza (Allende *et al.*, 2004b).

Las plantas de I.mulch, en general presentaron recuentos de BAMT menores a los recuentos de plantas provenientes de I.trad y campo, en todos los tipos de atmósfera estudiados; en especial en la zona externa, aún cuando al momento de la cosecha la lechuga de I.mulch había presentado recuentos superiores a los de las plantas de campo e I.trad. Los recuentos de BAMT en las plantas de I.mulch, permanecieron menores a los de las plantas de I.trad o campo, hasta el final del almacenamiento (día 14), si bien en algunos casos esta diferencia no resultó significativa, posiblemente asociado a la elevada variabilidad de los datos.

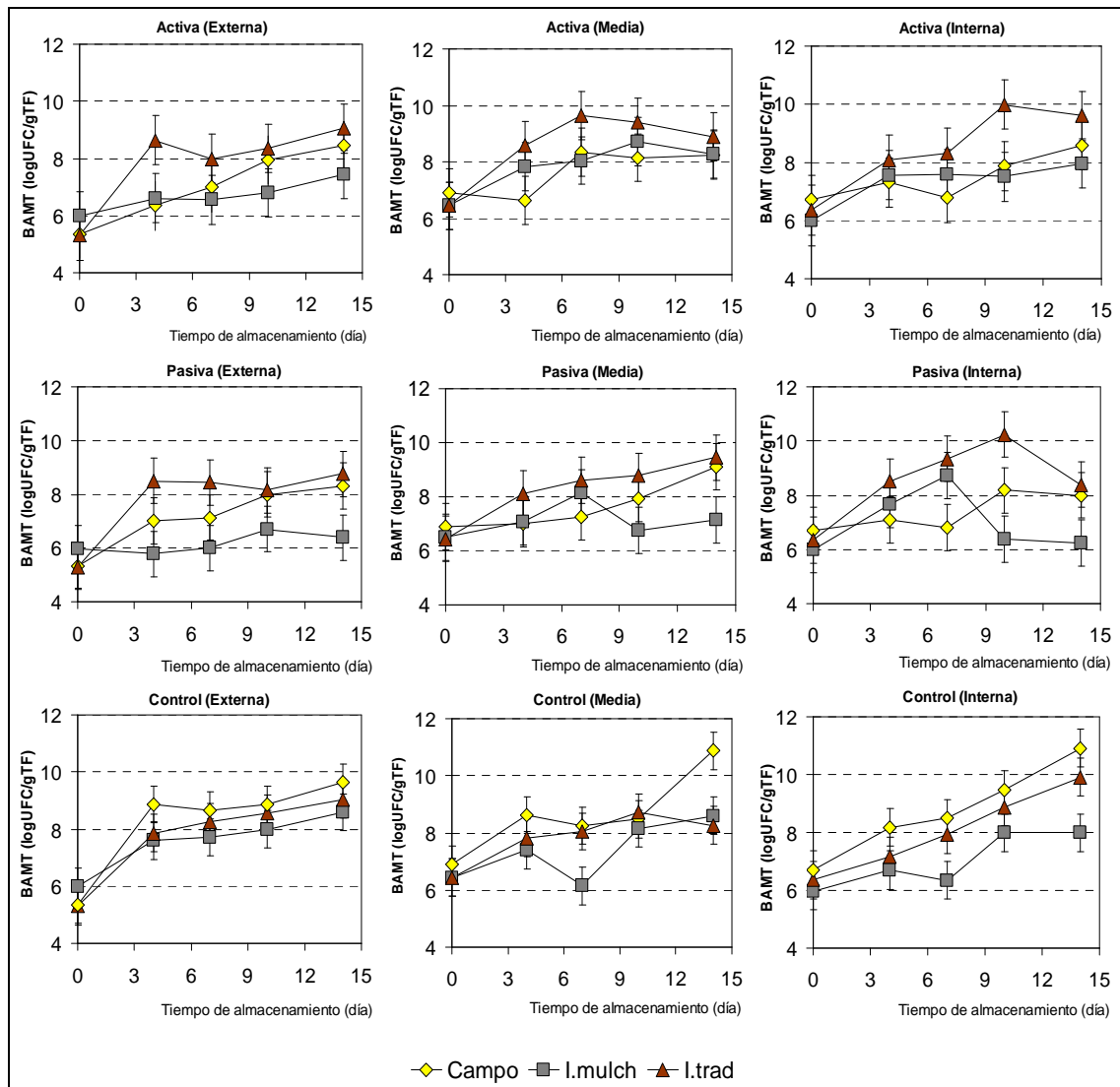


Figura 33: Evolución del recuento de bacterias aerófilas mesófilas totales (BAMT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Los menores recuentos de BAMT podrían indicar que las poblaciones microbianas presentes en las plantas I.mulch presentarían una tolerancia reducida a las bajas temperaturas a las que fueron expuestas durante el almacenamiento (0 - 2 °C), comparadas con las poblaciones presentes en las plantas de I.trad o campo. El microclima generado por el *mulch* durante el desarrollo de la planta, condicionaría la capacidad adaptativa de la microflora, evitando que desarrollen resistencia a condiciones adversas. En cambio, los microorganismos que se desarrollaron en ambientes más cambiantes, como son las condiciones a las que fueron sometidas las

plantas de campo e I.trad, podrían contribuir al desarrollo de estrategias adaptativas que le permitirían a estas poblaciones afrontar las condiciones adversas del posterior almacenamiento refrigerado.

En la legislación argentina no existe un valor de recuento de BAMT considerado como límite de aceptación para vegetales de hoja. Sólo se encontró como valor de referencia el impuesto por la legislación francesa para lechuga mínimamente procesada (Barriga *et al.*, 1991) quienes indicaron el máximo establecido como 5×10^7 UFC / g TF (7.69 expresado como log UFC / g TF). Utilizando este parámetro como determinante del fin de la vida útil desde el punto de vista sanitario, sólo en las lechugas de *I.mulch* almacenadas en atmósfera activa o pasiva, se obtuvieron recuentos menores al límite establecido (Figura 33). Las plantas de *I.mulch* almacenadas en atmósfera control superaron el límite de aceptación al día 10, indicando así el fin de su vida útil.

Las plantas de I.trad presentaron recuentos de BAMT mayores que las plantas de campo frente a la modificación de la atmósfera no siendo así en los envases con atmósfera control donde las plantas provenientes de campo presentaron recuentos mayores. En los tres tipos de atmósfera ensayados, los recuentos de BAMT en plantas provenientes de I.trad incrementaron su valor hasta el final del almacenamiento, superando el límite de aceptación a partir del día 4, excepto en la zona interna de las plantas envasadas en atmósfera control que alcanzaron el valor límite al día 7. En las plantas provenientes de campo, al final del almacenamiento los recuentos de BAMT aumentaron más de 2 log en los envases con atmósfera modificada, y cerca de 4 log en los envases de atmósfera control. En ambos casos el incremento fue respecto del recuento obtenido al momento de la cosecha.

El deterioro de los tejidos de los vegetales de hoja, que naturalmente contienen pequeñas cantidades de azúcares, se atribuye principalmente a la proliferación de microorganismos Gram-negativos, que no producen metabolitos volátiles. Un enfoque sensorial puede ser propuesto como una evaluación rápida de su vida útil. El límite de 10^7 UFC/ g siempre ha de ser evaluado simultáneamente con las propiedades sensoriales, ya que sólo luego de 2 – 3 días con valores de recuentos superiores a los recomendados los signos de deterioro son detectables mediante el análisis sensorial (Jacxsens *et al.*, 2003). Los resultados obtenidos en el presente estudio (recuentos

superiores a los límites recomendados) ponen de manifiesto la necesidad de juzgar la calidad de la lechuga no sólo por el recuento de bacterias totales, sino también en base a los resultados del análisis sensorial.

La modificación de la concentración de O₂ dentro de los envases produce condiciones de microanaerobiosis que contribuyen a la selección de las poblaciones microbianas que pueden desarrollarse. Por esta razón se realizaron recuentos de bacterias microaerófilas mesófilas (BMM) y de bacterias microaerófilas psicrófilas (BMP). La evolución de dichos recuentos se muestra en la Figura 34 y en la Figura 35 para BMM y BMP, respectivamente.

Al momento de la cosecha, las plantas provenientes de invernadero presentaron valores de recuentos de BMM significativamente menores a los de las plantas provenientes de campo en la zona externa y media (Tabla 31). En la zona interna, los recuentos de BMM no fueron significativamente diferentes, con un valor medio de 2.69 log UFC / g TF. La zona externa y media de las plantas de campo presentaron recuentos de BMM superiores al recuento correspondiente a la zona interna. En las plantas provenientes de invernadero, los recuentos de BMM no fueron significativamente diferentes entre las zonas.

El análisis de la varianza para los recuentos de BMM durante el almacenamiento mostró una interacción cuádruple significativa entre los factores en análisis ($p < 0.0001$). En todos los casos se observó un incremento significativo de los recuentos respecto del valor al momento de la cosecha hasta el día 7 de almacenamiento (Figura 34). En general, los valores medios obtenidos no fueron significativamente diferentes durante los últimos días de almacenamiento, tanto en atmósfera control como en las atmósferas modificadas.

Tabla 31: Comparaciones de las medias del recuento de bacterias microaerófilas mesófilas (BMM) en lechuga manteca al momento de la cosecha, para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Zona | | | |
| <i>Externa</i> | 4.79 ^{Aa} | 3.34 ^{Ab} | 2.78 ^{Ab} |
| <i>Media</i> | 4.94 ^{Aa} | 3.10 ^{Ab} | 2.34 ^{Ab} |
| <i>Interna</i> | 3.03 ^{Ba} | 2.32 ^{Aa} | 2.72 ^{Aa} |

En los envases con atmósfera activa y control, las plantas de campo presentaron mayores recuentos de BMM que las plantas de invernadero, sólo al inicio del almacenamiento. Al día 7, los recuentos de BMM no presentaron diferencias significativas según el método de cultivo utilizado. En los envases con atmósfera pasiva, si bien también se observó un incremento en los recuentos durante el almacenamiento, no se encontraron diferencias significativas según el método de cultivo, excepto al momento de la cosecha. Los recuentos alcanzaron un valor medio al día 14 de 6.48 log UFC/ g TF, sólo diferenciándose significativamente de este valor medio, el recuento correspondiente a la zona externa de las plantas de I.trad almacenadas en atmósfera control (7.60 log UFC / g TF) y el recuento de la zona externa de las plantas de campo envasadas en atmósfera modificada (8.15 log UFC / g TF) que presentaron valores superiores.

Los recuentos de BMM según el método de cultivo se incrementaron durante el almacenamiento en todas las zonas de la plantas. En la zona externa, las plantas provenientes de campo presentaron valores superiores a los correspondientes a las plantas de invernadero al inicio del almacenamiento (hasta el día 4). Posteriormente, los valores medios obtenidos para cada método de cultivo no fueron significativamente diferentes entre sí. En la zona media e interna, aún cuando se encontraron diferencias significativas entre los recuentos al momento de la cosecha, estas diferencias no fueron significativas durante el almacenamiento posterior.

Durante el almacenamiento, los recuentos de las bacterias microaerófilas psicrófilas (BMP) en lechuga se incrementaron en todos los tipos de atmósfera y en todas las zonas (Figura 35). Sin embargo, el análisis de la varianza de los recuentos mostró una interacción cuádruple significativa ($p < 0.0001$) indicando un comportamiento diferenciado en cada una de las situaciones estudiadas.

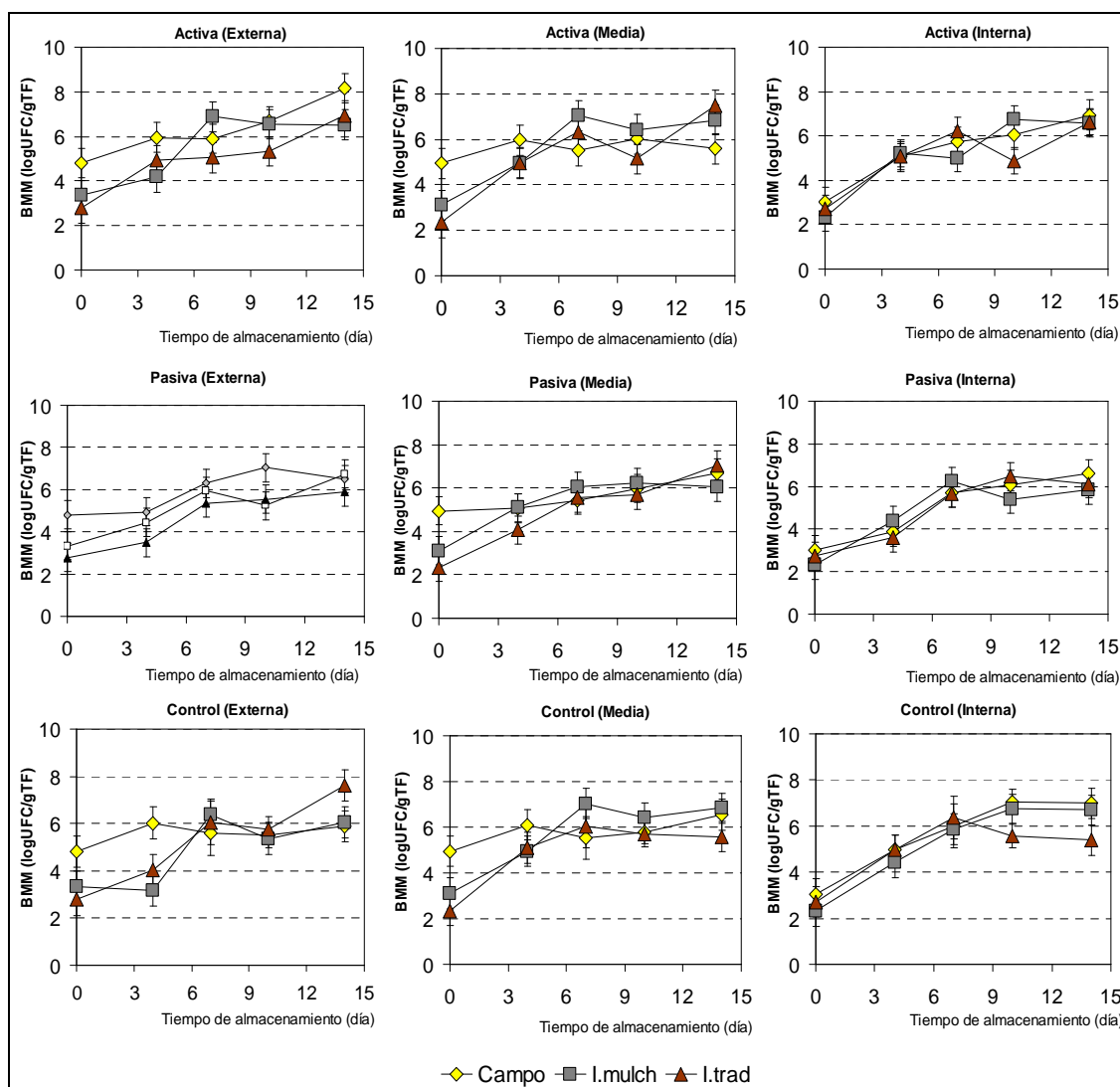


Figura 34: Evolución del recuento de bacterias microaerófilas mesófilas (BMM) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

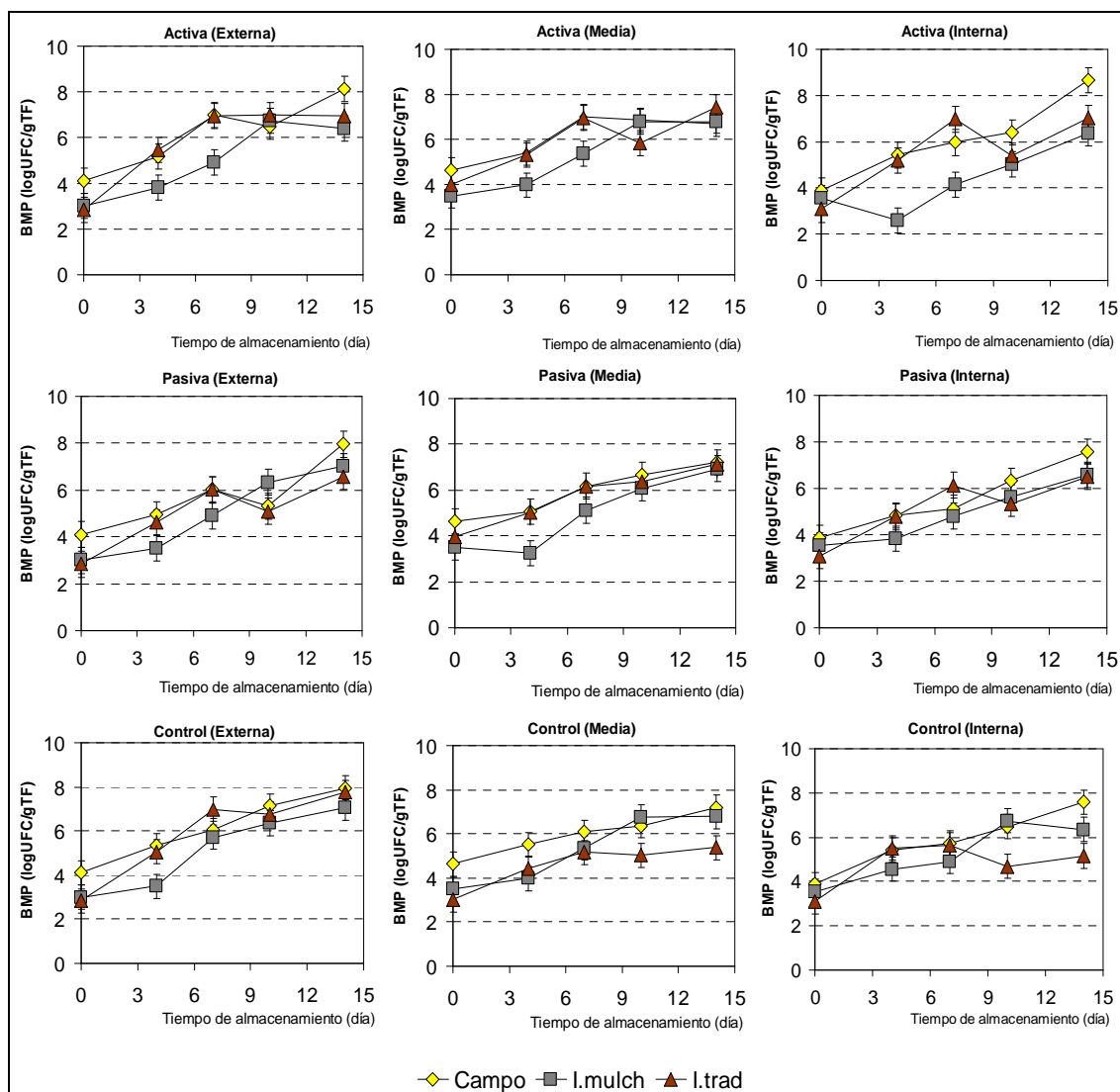


Figura 35: Evolución del recuento de bacterias aerófilas psicrófilas (BMP) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar.

Al momento de la cosecha, las plantas provenientes de invernadero presentaron valores de recuentos de BMP significativamente menores a los de las plantas provenientes de campo en la zona externa y media (Tabla 32). En la zona interna, los recuentos de BMP no fueron significativamente diferentes, con un valor medio de 3.50 logUFC/gTF. Comparando las diferentes zonas dentro de un mismo método de cultivo se observa que en la zona media, los recuentos de BMP fueron mayores que los correspondientes a las otras zonas, sin embargo las diferencias no fueron significativas. Durante el almacenamiento, las plantas de *I.mulch* presentaron

recuentos de BMP significativamente menores que los correspondientes a las plantas de I.trad y campo hasta el día 7, en todos los tipos de atmósfera y para todas las zonas. En general, las plantas de campo y de I.trad presentaron comportamientos similares durante todo el almacenamiento (excepto al momento de la cosecha).

Tabla 32: Comparaciones de las medias del recuento de bacterias microaerófilas psicrófilas (BMP) en lechuga manteca al momento de la cosecha, para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y zona (externa, media e interna). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Zona | | | |
| Externa | 4.10 ^{Aa} | 3.00 ^{Ab} | 2.84 ^{Ab} |
| Media | 4.64 ^{Aa} | 3.49 ^{Ab} | 3.98 ^{Bb} |
| Interna | 3.88 ^{Aa} | 3.55 ^{Aa} | 3.08 ^{Ba} |

En los envases con atmósfera modificada activa, las plantas de campo presentaron, al día 14, recuentos de BMP significativamente mayores que los correspondientes a las plantas de invernadero en la zona externa e interna (Figura 35). En la zona media, no se encontraron diferencias significativas para los recuentos según el método de cultivo. En las tres zonas los recuentos medios para las plantas de invernadero fueron menores a 7.00 log UFC / g TF, mientras que los recuentos de las plantas de campo (zona externa e interna) fueron superiores a 8.00 log.

Cuando las plantas de lechuga se almacenaron en atmósfera pasiva, solo en la zona externa los recuentos de BMP de las plantas de campo fueron superiores a los de las plantas de invernadero (7.96 log UFC / g TF y 6.79 log UFC / g TF, respectivamente). Por otro lado, los recuentos al día 14 de la zona media e interna no presentaron diferencias significativas según el método de cultivo, con un valor medio general de 6.98 log UFC / g TF.

En los envases con atmósfera control, los recuentos de BMP de las plantas de campo fueron mayores a 7.00 log UFC / g TF en las tres zonas. Las plantas

provenientes de I.trad mostraron recuentos de BMP significativamente menores (2 log) que las de I.mulch y campo en la zona media e interna, mientras que no se encontraron diferencias significativas en la zona externa.

Los recuentos de BMM y BMP obtenidos en el presente estudio no se vieron afectados por la modificación de la atmósfera como se esperaba. La reducción del contenido de O₂ en los envases con atmósfera modificada puede haber sido enmascarada por la disminución en la temperatura, lo que afectó sobre manera la actividad metabólica, tanto del vegetal como de los microorganismos presentes en el tejido.

8. Análisis sensorial

a. Pardeamiento en la zona de corte

La evolución del puntaje correspondiente al pardeamiento en la zona de corte (PZC) de las plantas de lechuga durante el almacenamiento en atmósfera modificada se muestra en la Figura 36. En todas ellas puede observarse el incremento del puntaje durante el almacenamiento, indicando la ocurrencia de la reacción de pardeamiento enzimático en la base del tallo como respuesta a la acción del corte. Al separar la raíz de la parte aérea de la planta, se produce la rotura de células, se libera el contenido de las vacuolas y entran en contacto las enzimas con los sustratos, que originan las sustancias pardas responsables por el cambio de color detectado por los evaluadores.

El análisis de la varianza para el PZC mostró una interacción triple no significativa ($p = 0.0865$) entre los factores estudiados y sí fueron significativas las interacciones dobles.

Durante el almacenamiento el PZC fue significativamente diferente según el método de cultivo utilizado, con una interacción significativa entre los factores día y método de cultivo ($p < 0.0001$). A partir del día 7, las plantas de l.mulch presentaron puntajes significativamente menores que los correspondientes a las plantas de l.trad y campo en todos los días de almacenamiento llegando a ser 40 % menor al día 14 (Tabla 33). En el día 4, las plantas de l.mulch presentaron menor pardeamiento (1.09) que las de l.trad (1.73), las que a su vez presentaron menor pardeamiento que las de campo (2.75). La magnitud del pardeamiento puede ser relacionada con la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el tejido y con la capacidad antioxidante del mismo, por lo que esta rápida diferenciación de las plantas de campo indicaría una mayor cantidad de compuestos fenólicos, lo que es consistente con los resultados presentados para el momento de la cosecha, donde se observó inmediatamente después del corte, el inicio del pardeamiento (1.55). Este rápido inicio del pardeamiento enzimático en las plantas de campo, representaría una desventaja competitiva ya que contribuye significativamente a la pérdida de calidad de las plantas respecto de las de invernadero.

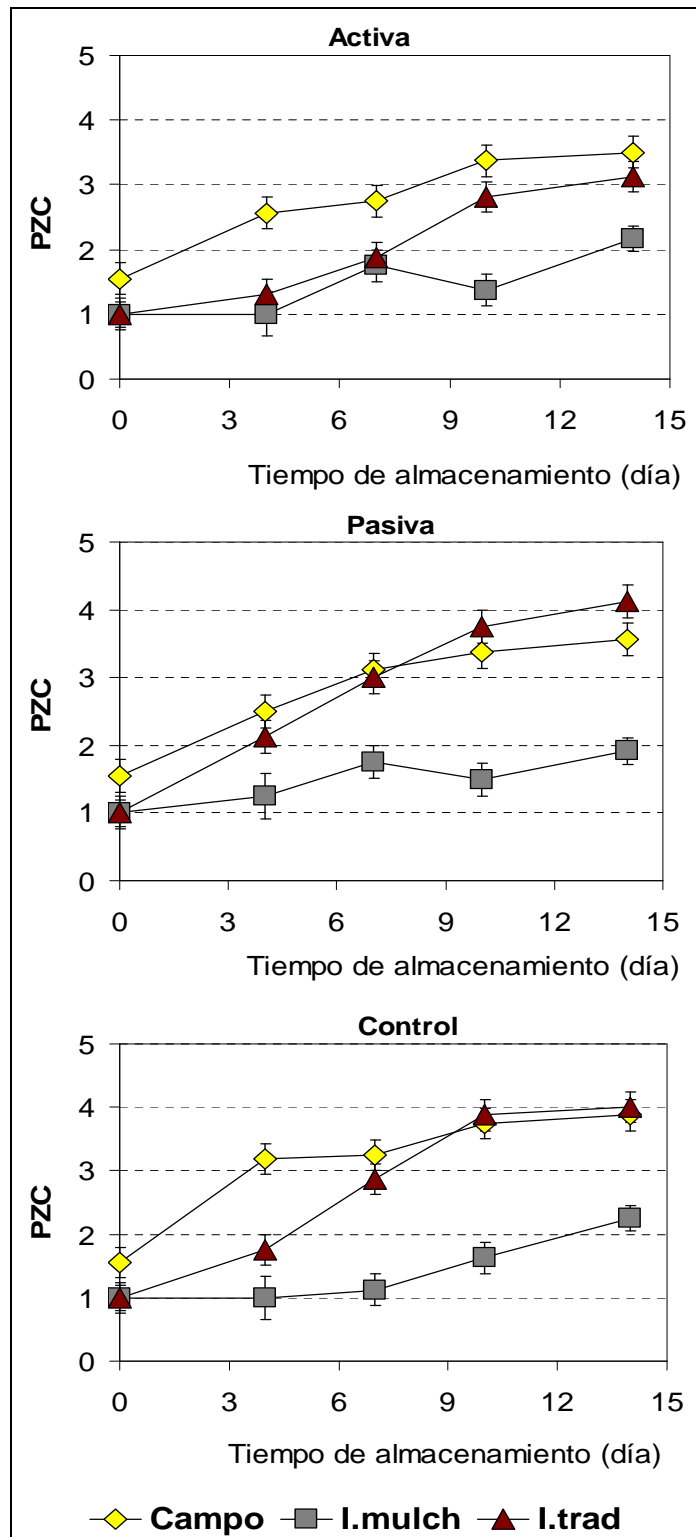


Figura 36: Evolución del puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) pardeamiento aceptable, (5) totalmente pardeado.

El PZC mostró entre los diferentes tipos de envasado y el método de cultivo una interacción significativa ($p < 0.0001$). Las plantas de l.mulch presentaron valores de puntaje para el PZC menores que las de campo e l.trad para los tres métodos de envasado (Tabla 34). Por su parte, las plantas provenientes de campo, como ya se mencionó anteriormente, presentaron puntajes de PZC mayores a los de invernadero en los tres tipos de envasado, pero solo en atmósfera activa fueron significativamente diferentes respecto de los obtenidos para las plantas de l.trad.

Si la duración de la vida útil de la lechuga manteca se basara solamente en el puntaje asignado para el PZC (valor límite = 3), las plantas de campo tendrían una vida útil menor a 10 días, si se almacenan en atmósfera activa o pasiva, y menor a 4 días si la atmósfera fuera control (Figura 36). Por su lado, las plantas provenientes de l.trad tendrían, en atmósfera activa una vida útil cercana a los 14 días, mientras que en atmósfera pasiva y control, superarían el límite de aceptación entre el día 7 y 10. En las plantas de l.mulch, el pardeamiento enzimático fue menor en todos los casos, y debido a que no supera durante el almacenamiento el valor límite, no permitió determinar el final de su vida útil.

Tabla 33: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca durante el almacenamiento para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) pardeamiento aceptable, (5) totalmente pardeado.

| Método de cultivo | Campo | l.mulch | l.trad |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | | | |
| 0 | 1.55 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} |
| 4 | 2.75 ^{Ba} | 1.09 ^{Ab} | 1.73 ^{Bc} |
| 7 | 3.05 ^{BCa} | 1.41 ^{ABb} | 2.59 ^{Ca} |
| 10 | 3.50 ^{BCa} | 1.50 ^{ABb} | 3.48 ^{Da} |
| 14 | 3.65 ^{BCa} | 2.11 ^{Bb} | 3.42 ^{Da} |

Tabla 34: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en la zona de corte (PZC) en lechuga manteca durante el almacenamiento para la interacción método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Letras mayúsculas por columna y minúsculas por fila. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) pardeamiento aceptable, (5) totalmente pardeado.

| Método de cultivo | Campo | I.mulch | I.trad |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Tipo de atmósfera | | | |
| Activa | 2.75 ^{Aa} | 1.46 ^{Ab} | 2.02 ^{Ac} |
| Pasiva | 2.85 ^{Aa} | 1.48 ^{Ab} | 2.80 ^{Ba} |
| Control | 3.12 ^{Ba} | 1.40 ^{Ab} | 2.90 ^{Ba} |

El uso de atmósfera modificada activa produjo una disminución significativa del PZC en las plantas con elevado contenido de polifenoles (campo e I.trad) pero no tuvo una influencia marcada en aquellas con bajos contenidos iniciales (I.mulch). En base a este resultado, debería ser tenido en cuenta el método de cultivo empleado para la obtención de la lechuga al momento de seleccionar el tipo de atmósfera que se utilizará durante el almacenamiento. En las plantas de I.mulch, el uso de atmósferas modificadas no produjo beneficios apreciables, mientras que en el caso de las plantas de campo logró prolongar la vida útil de 4 días (en atmósfera control) a 10 días (en atmósfera pasiva y activa).

b. Pardeamiento enzimático en las hojas

La evolución durante el almacenamiento del puntaje otorgado por los evaluadores a las plantas respecto del pardeamiento enzimático en las hojas (PEH) se muestra en la Figura 37. Al igual que en la zona de corte, el PEH se incrementó hacia el final del almacenamiento en todos los casos. Sin embargo, no todas las condiciones estudiadas presentaron evoluciones similares, lo que se confirma al analizar los efectos de los diferentes factores.

El análisis de la varianza mostró una interacción cuádruple no significativa ($p = 0.8285$) entre los factores en estudio, mientras que sí resultaron significativas las

interacciones triples entre los factores día, método de cultivo y tipo de envase y entre los factores día, método de cultivo y zona en la planta.

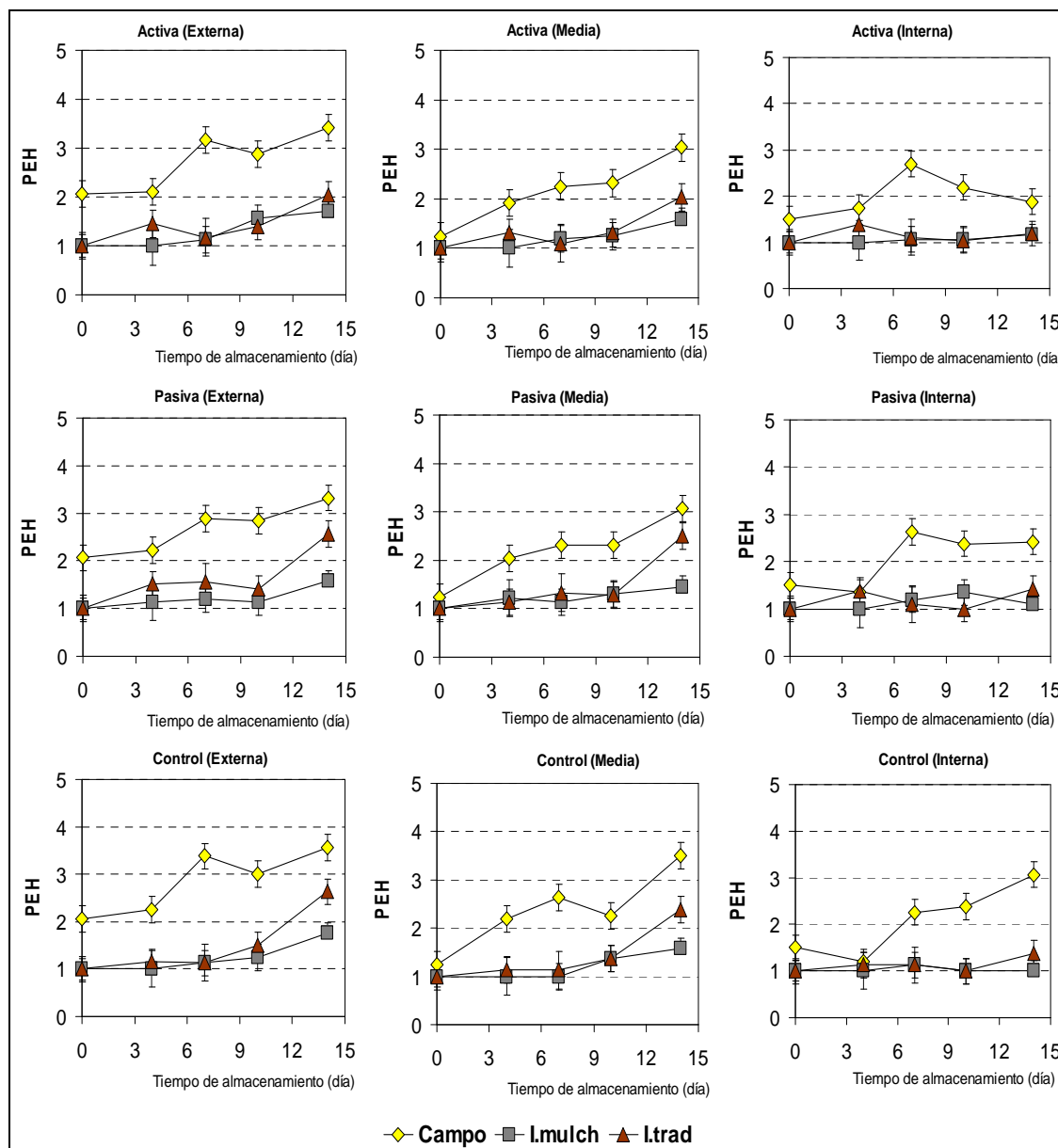


Figura 37: Evolución del puntaje medio asignado al descriptor pardeamiento enzimático en hojas (PEH) en lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la ubicación de la hoja (zona) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) pardeamiento aceptable, (5) totalmente pardeado.

Las comparaciones de los puntajes medios del PEH obtenidos para las plantas de lechuga manteca durante el almacenamiento, según el método de cultivo utilizado

y la zona de la planta, se pueden ver en la Tabla 35. El puntaje de las plantas de campo fue significativamente mayor que en las plantas de invernadero en todas las zonas de la planta y durante todo el almacenamiento. Al día 4 de almacenamiento, el puntaje del PEH de las zonas externa y media en las plantas de campo, fue significativamente mayor al puntaje de las plantas de invernadero. El hecho que las hojas provenientes de la zona externa en las plantas de campo presenten mayor PEH que el resto indicaría una desventaja tecnológica debido a que esto reduciría la calidad. Es más, el puntaje obtenido por las mismas al día 14 fue superior al definido como límite de aceptación, indicando el final de la vida útil para las plantas de campo.

En referencia a las plantas de invernadero, no se observaron diferencias significativas entre plantas de invernadero para el PEH en la zona media e interna. Por su lado, en la zona externa, las plantas de I.trad presentaron mayor PEH que las plantas de I.mulch al día 4 y hasta el final del almacenamiento. En la zona media de las plantas de campo, el puntaje del PEH al final del almacenamiento también se incrementó, llegando a 2.90, valor muy cercano al límite de aceptabilidad. En la zona interna, tanto de las plantas de campo como en las de invernadero, si bien se observó la presencia de pardeamiento enzimático en las hojas, el puntaje no superó el nivel definido como calidad aceptable durante el periodo de almacenamiento estudiado.

Las comparaciones de los puntajes medios del PEH obtenidos según el método de cultivo utilizado y para los diferentes tipos de atmósfera durante el almacenamiento, se muestran en la Tabla 36. Las plantas provenientes de campo presentaron puntajes mayores a los correspondientes a las plantas de invernadero en los tres tipos de atmósfera, indicando una mayor actividad enzimática. En las plantas en atmósferas modificadas pasivas, al día 7 se sobrepasó el valor del límite de aceptación (3.13).

Las plantas provenientes de invernadero, en atmósfera modificada activa, presentaron valores similares entre sí para el puntaje del PEH a lo largo de todo el almacenamiento, alcanzando al día 14 un puntaje medio de 1.45. Por otro lado, en las plantas almacenadas en atmósfera pasiva y en atmósfera control, las plantas de I.trad mostraron valores de puntaje para el PEH mayores hacia el final del almacenamiento, pero sin llegar al límite de aceptación.

Tabla 35: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en hojas (PEH) de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) para las distintas zonas en la planta (externa, media e interna). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) aceptable, (5) muy pardeado.

| Zona externa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 2.07 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.00 ^{Ab} |
| 4 | 2.12 ^{Aa} | 1.08 ^{Ab} | 1.59 ^{Bc} |
| 7 | 2.90 ^{Ba} | 1.17 ^{Ab} | 1.56 ^{Bc} |
| 10 | 2.82 ^{Ba} | 1.38 ^{ABb} | 1.58 ^{Bb} |
| 14 | 3.29 ^{Ba} | 1.61 ^{Bb} | 2.19 ^{Cc} |
| Zona media | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 1.24 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} |
| 4 | 1.90 ^{Ba} | 1.00 ^{Ab} | 1.16 ^{Ab} |
| 7 | 2.17 ^{Ba} | 1.21 ^{ABb} | 1.07 ^{Ab} |
| 10 | 2.23 ^{BCa} | 1.25 ^{ABb} | 1.27 ^{Ab} |
| 14 | 2.90 ^{Ca} | 1.50 ^{Bb} | 2.23 ^{Bc} |
| Zona interna | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 1.50 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} | 1.00 ^{Aa} |
| 4 | 1.34 ^{Aab} | 1.00 ^{Aa} | 1.47 ^{Ab} |
| 7 | 2.42 ^{Ba} | 1.13 ^{Ab} | 1.21 ^{Ab} |
| 10 | 2.25 ^{Ba} | 1.04 ^{Ab} | 1.02 ^{Ab} |
| 14 | 1.90 ^{Ba} | 1.17 ^{Ab} | 1.28 ^{Ab} |

Tabla 36: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados al descriptor pardeamiento enzimático en hojas (PEH) de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) para cada tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Escala: (1) sin pardeamiento, (3) aceptable, (5) muy pardeado.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 1.60 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.00 ^{Ab} |
| 4 | 1.63 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.24 ^{Ab} |
| 7 | 2.28 ^{Ba} | 1.17 ^{ABb} | 1.14 ^{Ab} |
| 10 | 2.38 ^{Ba} | 1.38 ^{ABb} | 1.20 ^{Ab} |
| 14 | 2.50 ^{Ba} | 1.53 ^{Bb} | 1.38 ^{Ab} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 1.60 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.00 ^{Ab} |
| 4 | 1.88 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.14 ^{Ab} |
| 7 | 3.13 ^{Ba} | 1.09 ^{Ab} | 1.13 ^{Ab} |
| 10 | 2.85 ^{Ba} | 1.21 ^{Ab} | 1.30 ^{Ab} |
| 14 | 3.04 ^{Ba} | 1.45 ^{Ab} | 2.13 ^{Bc} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 1.60 ^{Aa} | 1.00 ^{Ab} | 1.00 ^{Ab} |
| 4 | 1.86 ^{ABa} | 1.09 ^{Ab} | 1.21 ^{ABa} |
| 7 | 2.09 ^{Ba} | 1.25 ^{Ab} | 1.59 ^{Bb} |
| 10 | 2.48 ^{Ca} | 1.09 ^{Ab} | 1.48 ^{Bc} |
| 14 | 2.55 ^{Ca} | 1.31 ^{Ab} | 2.20 ^{Ca} |

El perfil de la evolución del puntaje de PEH obtenido para las plantas de lechuga manteca en cada tipo de atmósfera y según el método de cultivo utilizado siguió en todos los casos una tendencia lineal (Figura 38). La pendiente indica la tasa de aparición de pardeamiento enzimático en las hojas por día de almacenamiento.

En los envases con atmósfera modificada activa, la tasa de PEH de las plantas de campo fue significativamente diferente a la pendiente correspondiente a las plantas de I.mulch ($p = 0.0069$) pero no significativamente diferente a la pendiente de las plantas de I.trad ($p = 0.1332$). Por otro lado, las pendientes correspondientes a las plantas de invernadero no fueron significativamente diferentes entre sí ($p = 0.8533$) indicando una velocidad de cambio similar. Las plantas de campo, envasadas en atmósfera activa presentaron una tasa de aparición de PEH 2.1 veces superior respecto a lo obtenido para las plantas de invernadero.

En las plantas envasadas en atmósfera pasiva, la pendiente correspondiente a las plantas de campo fue mayor a la de las plantas provenientes de I.mulch ($p = 0.0270$) pero no fue significativamente diferente a la pendiente correspondiente a las plantas de I.trad ($p = 0.2939$). Tampoco presentaron diferencias significativas entre sí las pendientes correspondientes las plantas de invernadero ($p = 0.1623$).

En los envases con atmósfera control, la pendiente obtenida para las plantas proveniente de campo fue nuevamente significativamente diferente a la pendiente en las plantas de I.mulch ($p = 0.0121$) y, a diferencia de las atmósferas modificadas, sí presentó diferencias significativas con las pendientes que las plantas de I.trad ($p = 0.0109$). En estas últimas, la tasa de aparición de PEH fue mayor que la tasa en las plantas de I.mulch, debido a que las diferencias halladas para las correspondientes pendientes fueron significativas ($p = 0.0052$).

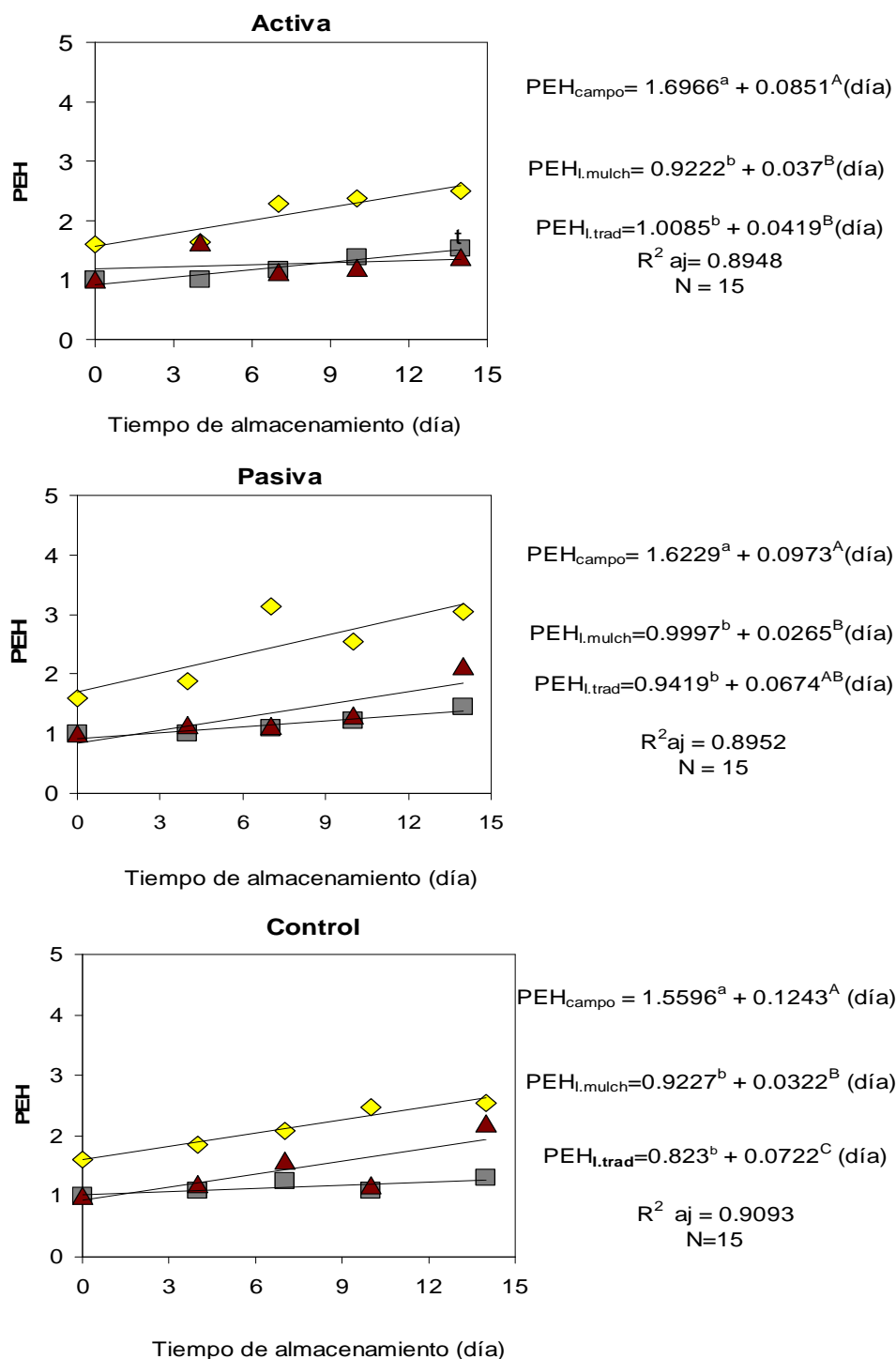


Figura 38: Ajuste lineal para las medias estimadas del puntaje asignado al descriptor pardeamiento enzimático en hojas (PEH) de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (c: campo, m: mulch y t: tierra) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$). Escala: (1) sin pardeamiento, (3) aceptable, (5) muy pardeado.

c. Textura en las hojas

La evolución del puntaje correspondiente a la textura al tacto de las hojas de lechuga manteca (TXT) se muestra en la Figura 39. La TXT de las hojas mostró una disminución de los puntajes otorgados por los jueces en todas las condiciones estudiadas, a lo largo del almacenamiento.

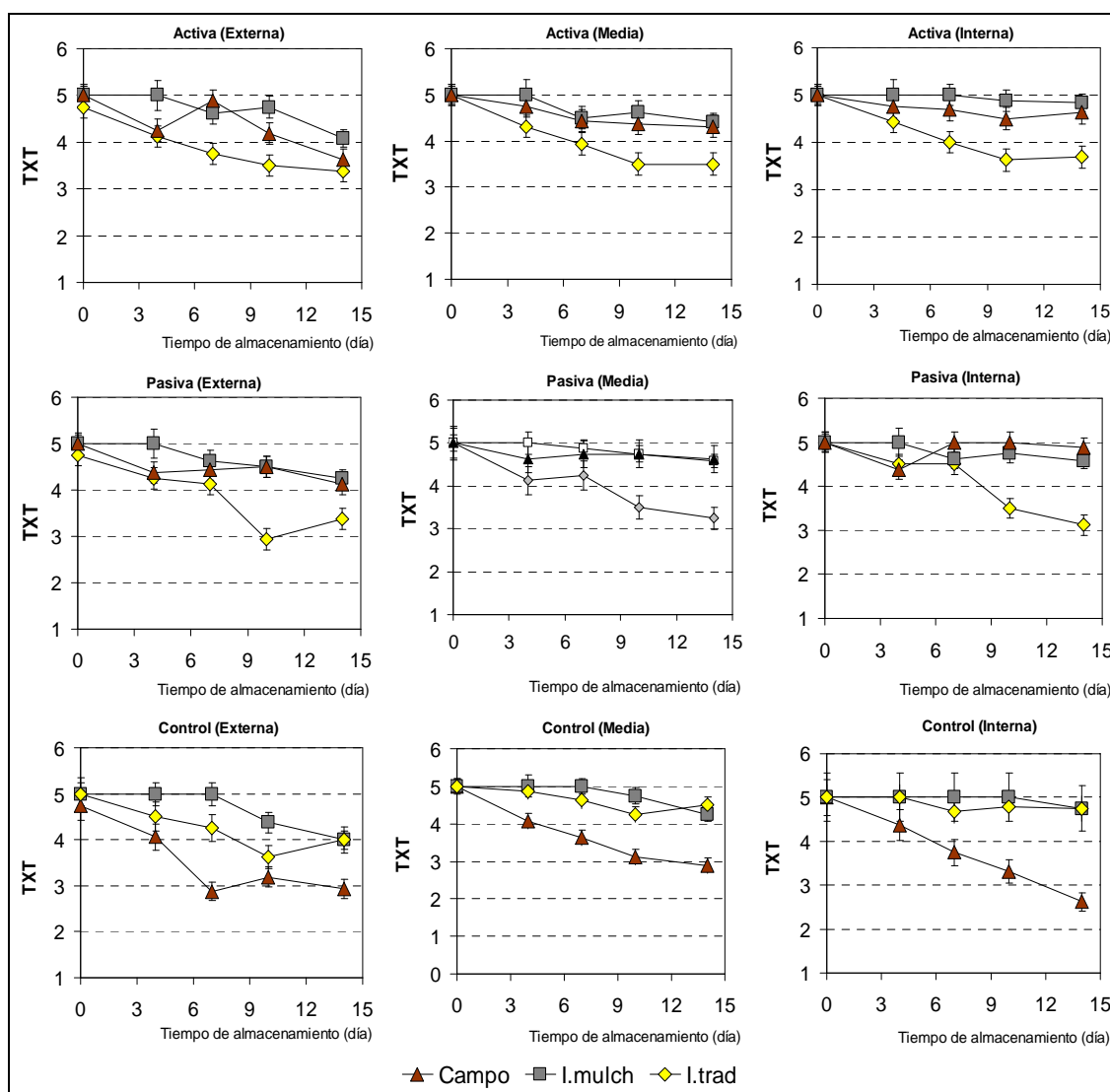


Figura 39: Evolución del puntaje medio asignado al descriptor textura al tacto (TXT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la zona (E: externa, M: media e I: interna) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

Independientemente del método de cultivo utilizado, los perfiles que representaron la evolución de la TXT para cada zona durante el almacenamiento resultaron similares, en los tres tipos de atmósfera ensayados. Estos resultados son consistentes con lo reflejado por el análisis estadístico, donde ninguna de las interacciones que incluyen el factor zona fueron significativas ($p > 0.05$), como así tampoco lo fue el factor zona ($p = 0.1360$). Esto permitió afirmar que la TXT en las tres zonas de la planta evolucionó de forma similar en las plantas de campo o de invernadero y en los tres tipos de envase ensayados.

La interacción triple con los factores día, método de cultivo y tipo de atmósfera resultó significativa ($p = 0.0051$). En los tres tipos de atmósfera las plantas provenientes de campo presentaron puntajes de TXT menores que los correspondientes para las plantas de invernadero, manteniendo dichas tendencia durante todo el período de almacenamiento (Tabla 37). En las plantas recién cosechadas, los evaluadores percibieron diferencias en la textura según las mismas provenían de campo o invernadero, siendo los puntajes correspondientes 4.92 y 5.00, respectivamente. Durante el almacenamiento, las plantas provenientes de campo presentaron puntajes significativamente menores que las plantas provenientes de invernadero, pero con diferentes efectos según la atmósfera utilizada para su envasado.

Cuando el envasado de las plantas se realizó en atmósfera activa o pasiva, al día 14, todas las plantas permanecieron sobre el límite de aceptación, siendo las plantas de campo las de menor puntaje respecto a las de invernadero. Cuando el envasado se realizó en atmósfera control, las plantas provenientes de campo presentaron un deterioro significativo de la textura, presentando al final del período de almacenamiento un puntaje por debajo del límite de aceptabilidad (2.81), lo que provocaría el rechazo del producto. Esto no ocurrió en las plantas de invernadero, las que mantuvieron el puntaje por sobre el valor límite (4.33 para las plantas de I.mulch y 4.42 para las de I.trad).

Tabla 37: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados descriptor textura al tacto (TXT) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) para cada tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha = 0.05$. Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 4.92 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |
| 4 | 4.29 ^{Ba} | 5.00 ^{Ab} | 4.58 ^{ABab} |
| 7 | 3.90 ^{Ba} | 4.71 ^{Ab} | 4.67 ^{ABb} |
| 10 | 3.54 ^{Ba} | 4.75 ^{Ab} | 4.35 ^{Bb} |
| 14 | 3.52 ^{Ba} | 4.44 ^{Ab} | 4.19 ^{Bab} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 4.92 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |
| 4 | 4.29 ^{Ba} | 5.00 ^{Ab} | 4.46 ^{Aab} |
| 7 | 4.29 ^{Ba} | 4.71 ^{Aa} | 4.73 ^{Aa} |
| 10 | 3.46 ^{Ca} | 4.67 ^{Ab} | 4.75 ^{Ab} |
| 14 | 3.10 ^{Ca} | 4.47 ^{Ab} | 4.54 ^{Ab} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | l.mulch | l.trad |
| 0 | 4.92 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |
| 4 | 4.17 ^{Ba} | 5.00 ^{Ab} | 4.79 ^{ABb} |
| 7 | 3.42 ^{Ca} | 5.00 ^{Ab} | 4.52 ^{ABb} |
| 10 | 3.21 ^{CDa} | 4.71 ^{ABb} | 4.22 ^{Bb} |
| 14 | 2.81 ^{Da} | 4.33 ^{Bb} | 4.42 ^{Bb} |

El perfil de la evolución de los puntajes de TXT obtenido para las plantas de lechuga manteca en cada tipo de atmósfera y según el método de cultivo utilizado siguió en todos los casos una tendencia lineal (Figura 40). En las tres atmósferas

ensayadas se observó que las plantas provenientes de campo presentaron una mayor tasa de cambio que las plantas provenientes de invernadero. En las plantas provenientes de invernadero, la textura también se vio alterada durante el almacenamiento, aunque en menor grado. Estas plantas, podrían mantener la turgencia típica hasta el final del almacenamiento, a pesar de los reajustes internos de AL detectados en el análisis previo (Figura 21).

En las plantas envasadas en atmósfera activa, la pendiente de la recta que representa la pérdida de textura en las plantas de campo fue significativamente diferente a la correspondiente a las plantas de I.mulch ($p = 0.0092$) y a las de I.trad ($p = 0.0313$), sin diferencias significativas entre las de invernadero ($p = 0.4686$). La mayor velocidad de deterioro de la textura en las plantas de campo (2.6 veces mayor) representa una desventaja importante, dado que la textura es un parámetro muy importante al decidir la compra el consumidor.

En las plantas envasadas en atmósfera pasiva, los resultados fueron similares respecto a las plantas en atmósfera activa. Las plantas de campo presentaron una pendiente significativamente diferente a las de I.mulch ($p = 0.0029$) y a las de I.trad ($p = 0.0008$). En este tipo de envase, las plantas provenientes de campo tendrían una tasa de pérdida de textura en las hojas 4.3 veces superior a la de las plantas de invernadero (considerando un pendiente media para estas últimas de 0.0304).

Al utilizar la atmósfera control durante el almacenamiento, la pendiente de deterioro de la textura en las plantas de campo fue también significativamente diferente respecto a las plantas de I.mulch ($p = 0.0020$) e I.trad ($p = 0.0023$), sin diferencias entre estas últimas ($p = 0.9422$). En este tipo de envase, la tasa de deterioro de las plantas provenientes de campo resultó 3.2 veces superior a la de las plantas de invernadero. Si bien no se compararon estadísticamente, se observó que la pendiente correspondiente a las plantas de campo envasadas en atmósfera control fue superior (0.1522) a la pendiente de las plantas en atmósfera activa (0.1039) y en atmósfera pasiva (0.1313). Esto significa que, si bien las plantas de invernadero mantienen la textura por más tiempo que las plantas provenientes de campo en todas las atmósferas, el uso de atmósferas modificadas (activa o pasiva) puede disminuir la tasa de deterioro de la textura en las hojas de estas plantas.

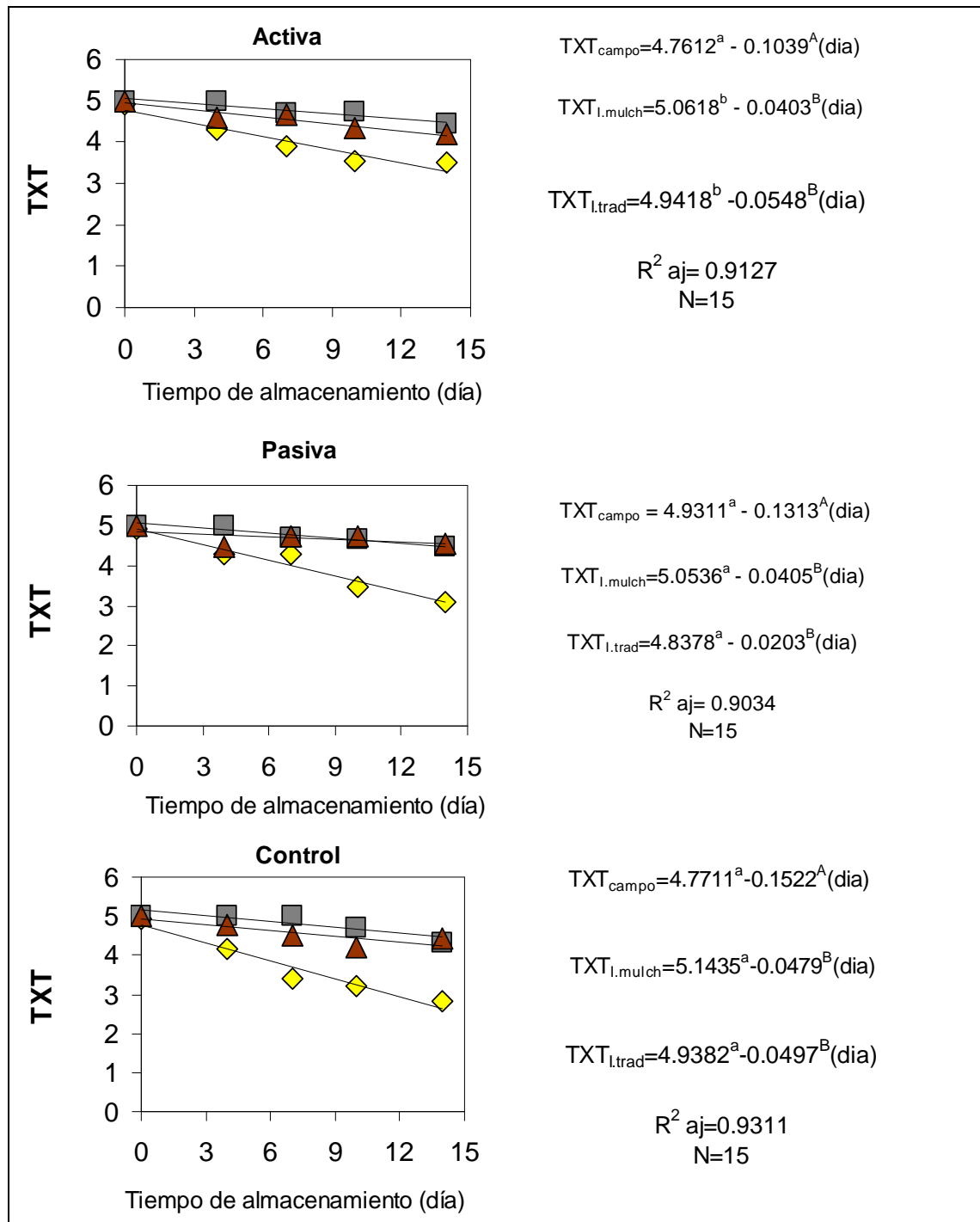


Figura 40: Ajuste lineal para las medias estimadas del puntaje asignado al descriptor textura al tacto (TXT) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$). Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

La TXT es un parámetro de calidad beneficiado por el uso de atmósferas modificadas ya que permitió disminuir la velocidad de deterioro respecto de las que no recibieron modificación alguna. Los resultados presentados muestran que el método de cultivo utilizado es altamente significativo, ya que aún cuando la tecnología de empaque empleada es la misma, las plantas provenientes de campo son más susceptibles al deterioro de la textura respecto de aquellas que fueron cultivadas bajo cubierta (*mulch* y tierra). La pérdida de textura acelerada en las plantas de campo no puede ser atribuida a los movimientos internos de AL ya que, como se analizó previamente, el contenido en AL en estas plantas no mostró variaciones significativas durante el almacenamiento (Figura 20). Otros factores, tales como la actividad de enzimas pectinesterasas, responsables de la lisis de la pared celular, podrían relacionarse con este comportamiento diferenciado. La actividad enzimática sobre la pared celular ocasionaría una disminución en la resistencia mecánica que podría ser detectada por los evaluadores como pérdida de textura.

d. Color y brillo de las hojas

En la Figura 41 se puede ver la evolución del puntaje correspondiente al color y el brillo de las hojas (CyB) en las plantas de lechuga manteca almacenadas en atmósfera modificada, según el método de cultivo utilizado y la zona dentro de la planta. El puntaje correspondiente al CyB durante el almacenamiento disminuyó, debido a la presencia de manchas y decoloraciones en las hojas. El análisis de la varianza correspondiente mostró que la interacción cuádruple entre los factores fue no significativa ($p = 0.5270$) y sí lo fueron dos de las interacciones triples.

La interacción triple que involucra los factores día, método de cultivo y zona fue significativa ($p < 0.0001$), indicando un comportamiento diferencial de la evolución del CyB en las diferentes zonas de la planta (Tabla 38). Las plantas de campo presentaron siempre valores de CyB menores a los correspondientes a las plantas de invernadero, llegando en la zona externa y media a un valor promedio de 2.89 al día 14, valor inferior al límite de aceptación (3). En la zona interna de las plantas provenientes de campo, el puntaje correspondiente al CyB en las hojas también fue menor al de las plantas de invernadero, pero mayor al de las zonas restantes de las plantas de campo (3.31). Este valor, si bien es superior al límite de aceptación, indicaría un deterioro que muchos consumidores podrían considerar inaceptable.

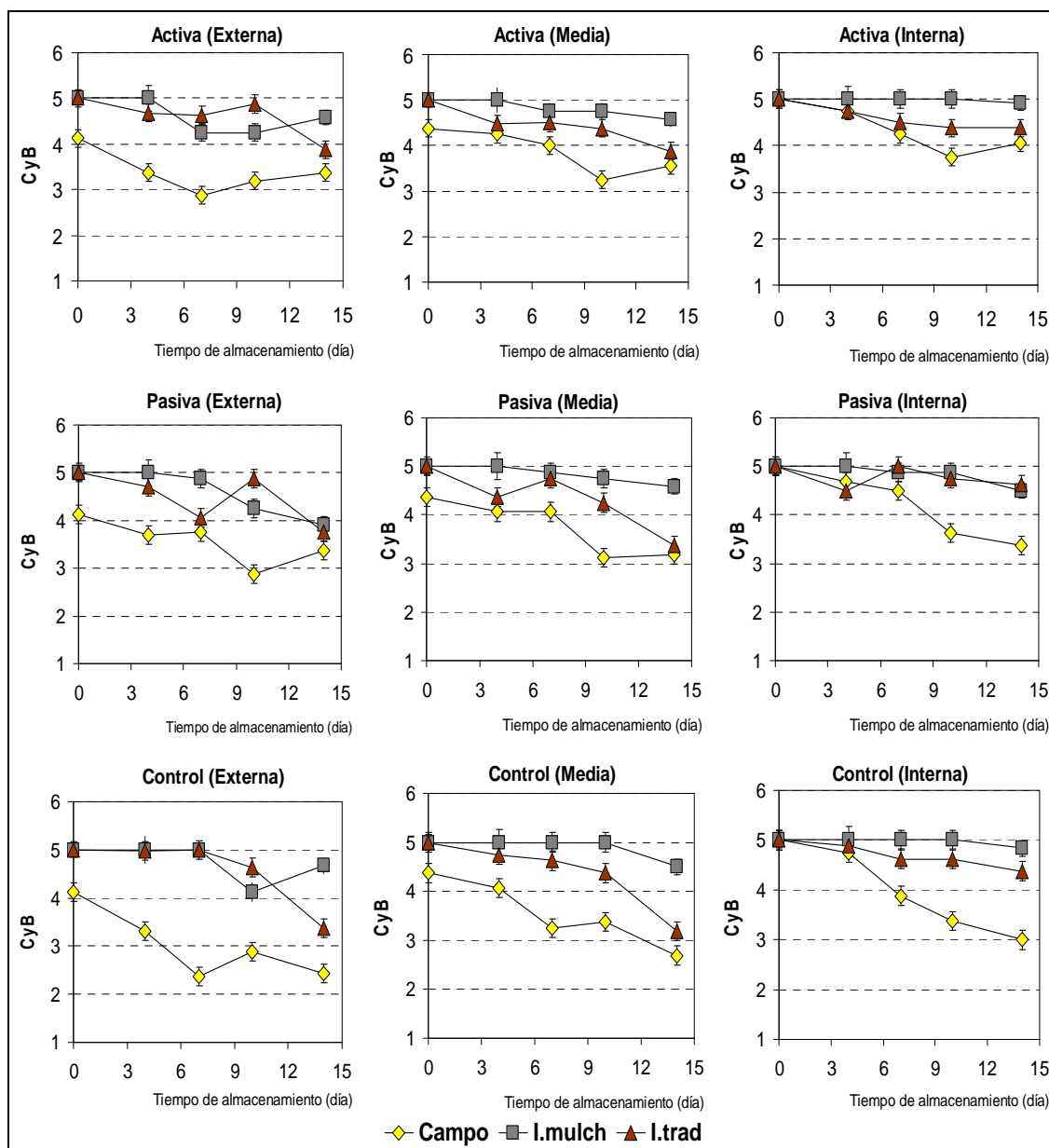


Figura 41: Evolución del puntaje medio asignado al descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional), la zona (E: externa, M: media e I: interna) y el tipo de atmósfera (A: activa, P: pasiva y C: control). Los valores corresponden al estimador de la media por el método de mínimos cuadrados \pm error estándar. Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

En las plantas de I.mulch, solo se observó una disminución en el puntaje de CYB en la zona externa, donde a partir del día 10 disminuyó un 18% respecto del puntaje obtenido al momento de la cosecha. En las plantas provenientes de I.trad, el puntaje correspondiente al CYB al final del almacenamiento alcanzó valores significativamente menores a los de las plantas de I.mulch, con una disminución de

19%, 26% y 7% comparadas con el valor correspondiente a las plantas de *I.mulch*, para la zona externa, media e interna, respectivamente.

Las plantas de lechuga de *I.mulch* no presentaron cambios significativos en el puntaje de CYB durante el almacenamiento en ninguno de los tipos de atmósfera estudiados (Tabla 39), excepto en atmósfera pasiva al final del almacenamiento donde se observó una disminución del 15% respecto del momento de la cosecha.

En las plantas provenientes de *I.trad*, el puntaje se mantuvo durante el almacenamiento en los tres tipos de atmósfera estudiados hasta el día 14, donde se observó una disminución del 21 %, 24 % y 30 % para atmósfera activa, pasiva y control, respectivamente.

En las plantas de campo, el puntaje correspondiente al CYB mostró disminuciones significativas a partir del día 7 en atmósfera activa (20 %) y control (33 %) y a partir del día 10 en pasiva (32 %), siempre respecto al puntaje obtenido al momento de la cosecha, teniendo en cuenta que fue menor que el correspondiente puntaje de CYB de las plantas de invernadero. Al final del almacenamiento (día 14), las plantas almacenadas en atmósfera control alcanzaron un puntaje inferior al del límite de aceptación (2.45) para el CYB. Esto no se observó en las plantas provenientes de campo almacenadas en atmósfera activa (3.52) o pasiva (3.12); ni en las plantas de invernadero al ser almacenadas en atmósferas control (4.63 para *I.mulch* y 3.49 para *I.trad*).

La evolución del CyB en las plantas de lechuga durante el almacenamiento, según el tipo de atmósfera y el método de cultivo, mostró un perfil lineal (Figura 42). En estos perfiles, la pendiente de la recta obtenida se relaciona con la velocidad de deterioro del color y brillo de las hojas, según los puntajes asignados a dicho indicador por los evaluadores.

Tabla 38: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) en las distintas zonas de la planta (externa, media e interna). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

| Zona externa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 4.02 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 5.00 ^{Ab} |
| 4 | 3.28 ^{BCa} | 5.00 ^{Ab} | 4.76 ^{Ab} |
| 7 | 2.78 ^{BCa} | 4.67 ^{Ab} | 4.51 ^{Ab} |
| 10 | 2.75 ^{Ca} | 4.12 ^{Bb} | 4.76 ^{Ab} |
| 14 | 2.85 ^{BCa} | 4.32 ^{Bb} | 3.51 ^{Bc} |
| Zona media | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 4.30 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 5.00 ^{Ab} |
| 4 | 4.03 ^{ABa} | 5.00 ^{Ab} | 4.48 ^{ABb} |
| 7 | 3.63 ^{Ba} | 4.86 ^{Ab} | 4.58 ^{ABb} |
| 10 | 3.05 ^{Ca} | 4.82 ^{Ab} | 4.26 ^{Bb} |
| 14 | 2.94 ^{Ca} | 4.50 ^{Ab} | 3.31 ^{Ca} |
| Zona interna | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |
| 4 | 4.70 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 4.68 ^{ABa} |
| 7 | 4.12 ^{Ba} | 4.95 ^{Ab} | 4.68 ^{ABb} |
| 10 | 3.43 ^{Ca} | 4.95 ^{Ab} | 4.54 ^{ABb} |
| 14 | 3.31 ^{Ca} | 4.72 ^{Ab} | 4.39 ^{ABb} |

Tabla 39: Comparaciones de las medias de los puntajes asignados descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca para la interacción día y método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) para cada tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras distintas indican diferencias significativas según el test de Tukey-Kramer con $\alpha=0.05$. Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

| Atmósfera activa | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 4.50 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 5.00 ^{Ab} |
| 4 | 4.02 ^{ABa} | 5.00 ^{Ab} | 4.55 ^{Aab} |
| 7 | 3.56 ^{Ba} | 4.63 ^{Ab} | 4.49 ^{Ab} |
| 10 | 3.21 ^{Ba} | 4.63 ^{Ab} | 4.49 ^{Ab} |
| 14 | 3.52 ^{Ba} | 4.65 ^{Ab} | 3.93 ^{Bab} |
| Atmósfera pasiva | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 4.50 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 5.00 ^{Ab} |
| 4 | 4.05 ^{Aa} | 5.00 ^{Ab} | 4.47 ^{ABab} |
| 7 | 4.00 ^{Aa} | 4.86 ^{Ab} | 4.55 ^{Ab} |
| 10 | 3.01 ^{Ba} | 4.58 ^{ABb} | 4.58 ^{Aab} |
| 14 | 3.12 ^{Ba} | 4.26 ^{Bb} | 3.79 ^{Bab} |
| Atmósfera control | | | |
| Tiempo de almacenamiento (día) | Método de cultivo | | |
| | Campo | I.mulch | I.trad |
| 0 | 4.92 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} | 5.00 ^{Aa} |
| 4 | 4.17 ^{Ba} | 5.00 ^{Ab} | 4.79 ^{ABb} |
| 7 | 3.42 ^{Ca} | 5.00 ^{Ab} | 4.52 ^{ABb} |
| 10 | 3.21 ^{CDa} | 4.71 ^{ABb} | 4.22 ^{Bb} |
| 14 | 2.81 ^{Da} | 4.33 ^{Bb} | 4.42 ^{Bb} |

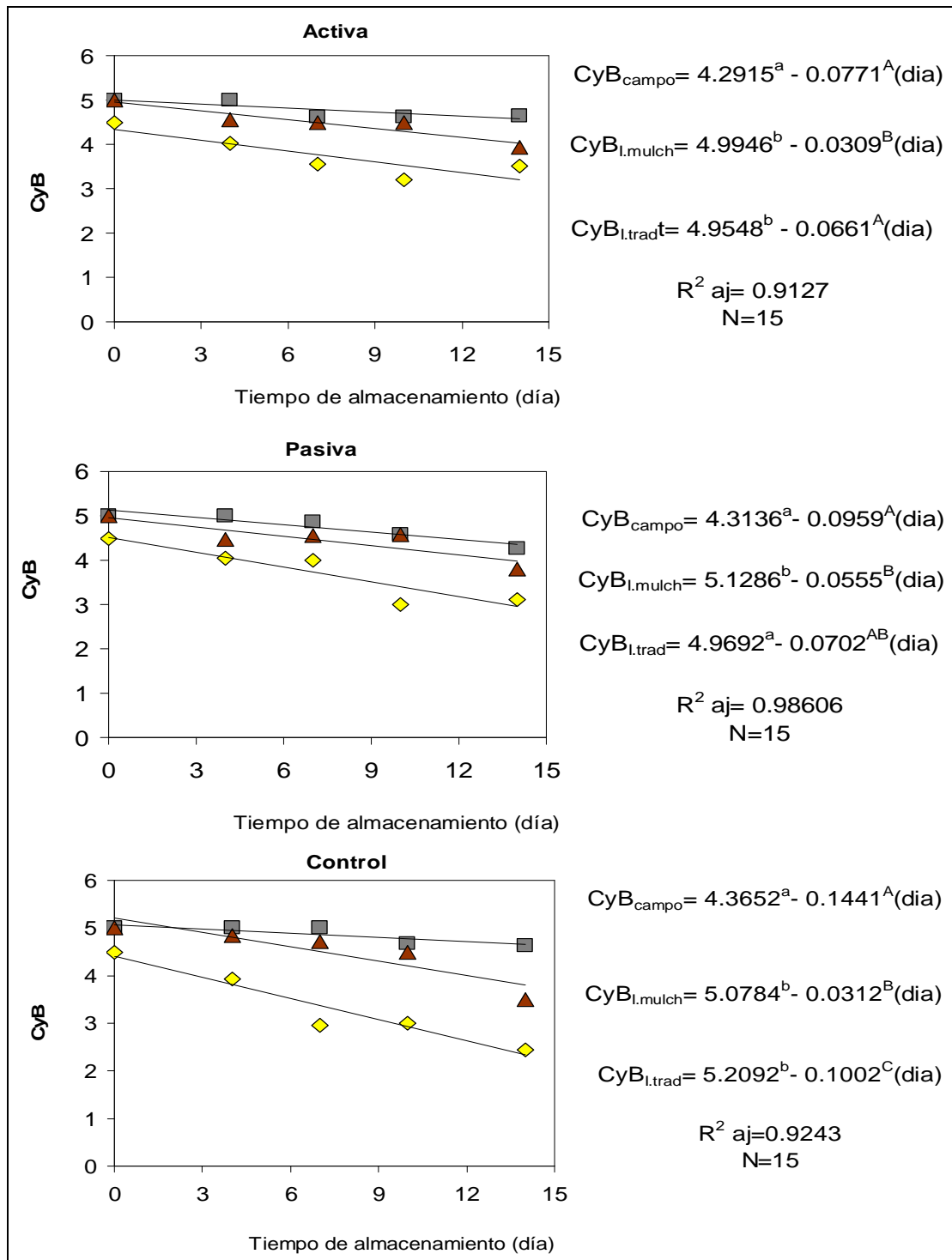


Figura 42: Ajuste lineal para las medias estimadas del puntaje asignado al descriptor color y brillo (CyB) en hojas de lechuga manteca durante el almacenamiento refrigerado, según el método de cultivo (campo, invernadero mulch e invernadero tradicional) y el tipo de atmósfera (activa, pasiva y control). Los valores presentados corresponden a los estimadores de medias por el método de mínimos cuadrados. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre las pendientes y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre ordenadas al origen ($p < 0.05$). Escala: (5) excelente, (3) aceptable, (1) inutilizable.

En los envases con atmósfera modificada, tanto activa como pasiva, las plantas de campo e I.trad no mostraron diferencias significativas entre las correspondientes pendientes ($p = 0.6908$ y $p = 0.2624$). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las plantas de invernadero cuando fueron almacenadas en atmósfera pasiva ($p = 0.6483$). En ambos tipos de atmósfera modificada, las plantas provenientes de I.mulch presentaron velocidades de deterioro del CyB en las hojas menores a las de campo ($p = 0.0125$ y $p = 0.0298$ para activa y pasiva, respectivamente). La velocidad de pérdida de CyB en las hojas de las plantas provenientes de campo respecto de las de I.mulch fue 2.5 veces superior cuando se las almacenó en atmósfera activa, mientras que dicha relación es 1.7 veces en las plantas almacenadas en atmósfera pasiva. Sin embargo, para las plantas de I.mulch la velocidad de deterioro fue superior cuando se utiliza atmósfera pasiva (0.0555) respecto a la velocidad en las plantas envasadas en atmósfera activa (0.0309).

Las plantas provenientes de campo, al ser almacenadas en atmósfera control, mostraron también un perfil lineal. En dicho perfil, la pendiente resultó significativamente diferente respecto a la pendiente obtenida para las plantas provenientes de invernadero ($p = 0.0053$ para I.mulch y $p = 0.0192$ para I.trad). A diferencia que en los envases con atmósfera modificada, las pendientes correspondientes a las plantas de invernadero fueron significativamente diferentes ($p = 0.0425$). En este tipo de envase, las plantas provenientes de campo mostraron una tasa de deterioro del CyB en las hojas 4.6 veces superior a la tasa de las plantas provenientes de I.mulch y 1.4 veces superior a la pendiente de las plantas provenientes de I.trad.

Es interesante remarcar que en los envases con atmósfera control, las velocidades de deterioro (pendientes) en las plantas de campo e I.trad fueron superiores a las correspondientes velocidades en los envases con atmósfera modificada. Sin embargo, esto no fue observado en las plantas provenientes de invernadero con uso de I.mulch, en las que la tasa de deterioro del color y brillo de las hojas se mantuvo relativamente constante y siempre con menor valor respecto a los restantes métodos. Esto podría ser considerado como un valor agregado a las plantas que les permitiría diferenciarse de las otras. El mantenimiento del color y el brillo durante el almacenamiento indica una mayor calidad sensorial, permitiendo conservar por más tiempo uno de los parámetros de mayor impacto sobre el consumidor a la hora de adquirir el producto.

D – CONCLUSIÓN

- ✓ El material PD960, seleccionado para la modificación de la atmósfera, permitió la disminución del %O₂ en el espacio de cabeza sin llegar a niveles de O₂ tales que se desencadenen procesos de respiración anaeróbica, reduciendo el riesgo de pérdidas de calidad en la lechuga.
- ✓ El consumo de O₂ en los envases con plantas provenientes de invernadero (tradicional y mulch) fue similar entre sí y menor al consumo de las plantas provenientes de campo.

El incremento en la velocidad de respiración en las plantas de lechuga proveniente de campo, respecto de las plantas de invernadero, se observó tanto en los envases con atmósfera modificada activa como pasiva. La mayor actividad metabólica aceleraría los procesos de senescencia y deterioro, acortando la vida útil de la lechuga y disminuyendo su calidad postcosecha.

- ✓ No se observó pérdida de peso significativa a lo largo del almacenamiento, para ninguno de los tipos de atmósfera. El uso de materiales barrera al vapor de agua permitió asegurar dentro del envase un nivel de humedad relativa óptimo (95 – 98 %).

El envasado de las plantas de lechuga, combinado con refrigeración a la temperatura óptima (0 – 2 °C) permitiría prolongar la vida útil de la lechuga manteca y mantener su calidad postcosecha.

- ✓ En general, el uso de atmósferas modificadas no modificó significativamente los índices de agua en lechuga manteca durante el almacenamiento respecto de la atmósfera control. La baja permeabilidad al vapor de agua de los materiales utilizados, fue prioritaria sobre el efecto de la modificación de la atmósfera. El CRA y el contenido de AU de las hojas de lechuga manteca, se incrementaron durante el almacenamiento refrigerado en todos los tipos de atmósfera. Por su lado, el contenido de AL y la relación AL/AT disminuyeron en el almacenamiento, mientras que el CA permaneció relativamente constante.

- ✓ El método de cultivo utilizado durante la producción primaria presentó diferencias en el estado de agua durante el almacenamiento refrigerado en los tres tipos de atmósfera estudiados. Las plantas de campo, al momento de la cosecha mostraron signos de estrés hídrico (mayor CRA, menor CRA, CA, AL y AL/AT) que fueron parcialmente compensados durante el almacenamiento, debido al intercambio entre el tejido y la atmósfera con elevada humedad relativa.

El contenido de agua relativo en las hojas de lechuga manteca resultó un indicador más sensible del estado de agua en la planta que el contenido de agua. La utilización de materiales barrera al vapor de agua minimizó la deshidratación superficial. Sin embargo, los reajustes de agua internos del vegetal, debido a los cambios metabólicos y fisiológicos, fueron detectados a través de la evolución del contenido de agua relativo (capacidad de retención de agua en el tejido), del contenido de agua libre y agua unida y en la relación agua libre/ agua total.

- ✓ El método de cultivo utilizado condicionó el color de las plantas al momento de la cosecha y su evolución durante el almacenamiento refrigerado. Las plantas de I.trad presentaron valores de IC más negativos, indicando una coloración más verde que las de campo e I.mulch. Sin embargo, el color menos verde de las plantas de I.mulch no fue considerado un defecto sino una característica particular de este método de cultivo.
- ✓ En general, el uso de atmósferas modificadas retuvo la coloración típica del vegetal al momento de la cosecha (sin variaciones en los parámetros de color **L***, **a*** y **b***). Sin embargo, un leve incremento del IC (virando a tonalidades amarillas) fue observado durante el almacenamiento en los envases con atmósfera control.
- ✓ Desde el punto de vista nutricional no fue posible determinar un beneficio de la modificación de la atmósfera o del método de cultivo. Dado que independientemente de estas variables, el contenido en AA mostró una disminución significativa durante el almacenamiento.

Ninguna de las condiciones propuestas permitió retener un mayor contenido de AA durante el almacenamiento.

- ✓ En general, independientemente de la modificación de la atmósfera, las plantas de lechuga de I.mulch presentaron recuentos microbiológicos durante el almacenamiento menores a los correspondientes a las plantas de I.trad y campo, tanto en bacterias aerófilas como microaerófilas.

Desde el punto de vista sanitario, las poblaciones microbianas presentes en las plantas de invernadero mulch mostraron una menor tolerancia al almacenamiento refrigerado, evidenciado por los menores recuentos observados.

- ✓ Sensorialmente, las plantas provenientes de campo presentaron puntajes menores en todos los casos durante el almacenamiento. Este resultado puede ser relacionado a una mayor exposición de las hojas durante el desarrollo a condiciones climáticas cambiantes, más agresivas, ocasionando modificaciones morfológicas, lesiones, mayor contenido de compuestos fenólicos y decoloraciones.

A través del análisis sensorial se pudo resaltar el beneficio del uso de atmósferas modificadas sobre la vida útil de la lechuga proveniente de campo, incrementando su vida útil de 4 a 10 días.

IV – CONCLUSIÓN GENERAL

La utilización de invernaderos en la producción de hortalizas de hojas se ha incrementado en los últimos años, principalmente debido al aumento en los rendimientos y al incremento de la oferta durante todo el año, disminuyendo en muchos casos la estacionalidad de los productos. Sin embargo, el cultivo a campo no ha sido completamente abandonado y muchos productores (especialmente de pequeños volúmenes) continúan esta práctica, por lo que las conclusiones obtenidas a partir de este trabajo pueden ser difundidas a través de la Cooperativa Hortícola con el objeto de mejorar las condiciones de comercialización de la lechuga.

En el presente trabajo se logró identificar el efecto que tiene el uso de invernaderos (tradicional y con uso de *mulching* plástico) respecto del campo, en la calidad de la lechuga manteca al momento de la cosecha. Paralelamente se determinó que en lechuga existe una zonificación de los indicadores de calidad, siguiendo un diseño de anillos, definidos en función de la ubicación de la hoja en la planta. Esta información es fundamental al momento de definir el destino del producto y para la selección de la tecnología postcosecha que será utilizada para mantener su calidad durante el período de comercialización.

Se encontró que las plantas provenientes de invernadero presentan al momento de la cosecha mejores índices de calidad nutricional y especialmente sensorial. La lechuga de invernadero presentó mejor color y brillo en las hojas, mejor textura y menor pardeamiento enzimático en hojas y en la zona de corte, representando una característica de comercialización importante (junto al mayor peso por planta y número de hojas), lo que permitiría incrementar la rentabilidad del productor.

Durante el almacenamiento se logró determinar que el uso de invernaderos en la producción primaria de lechuga manteca permite, no solo obtener un producto con mayor calidad inicial, sino también con mejor tolerancia al almacenamiento refrigerado, sin diferencias significativas entre las plantas provenientes de invernadero tradicional o mulch.

La utilización de atmósferas modificadas en plantas provenientes de invernadero no mostró una mejora significativa en la retención de los indicadores de calidad o extendiendo la vida útil. La buena calidad inicial conjuntamente con la mejor tolerancia del producto al almacenamiento, no evidenció un beneficio adicional de la aplicación de una tecnología postcosecha cara como lo es la modificación de la atmósfera. En este caso, la refrigeración de las plantas (0 - 2 °C) en un envase que prevenga la deshidratación sería suficiente para un almacenamiento de al menos 14 días.

Por otro lado, el uso de atmósferas modificadas para el almacenamiento de las lechugas provenientes de campo sí mostró un beneficio importante, permitiendo incrementar la vida útil del producto de 4 a 10 días. Este resultado, presenta al envasado en atmósferas modificadas como una herramienta viable para la comercialización de lechuga manteca, envasada entera, si lo que buscan los consumidores es un producto que se diferencie del resto por el elevado contenido en compuestos bioactivos, como los polifenoles.

V - BIBLIOGRAFÍA

- ABADIAS, M.; USALL, J.; AUGUERA, M.; SOLSONA, C.; VIÑAS, I. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Intern. J. Food Microbiol.* 123:121-129.
- ABAWI, G.S.; WIDMER, T.L. 2000. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodos and root diseases of vegetable crops. *Appl. Soil Ecol.* 15:37-47.
- AGÜERO, M.; BARG, M.; YOMMI, A.; CAMELO, A.; ROURA, S. 2008. Postharvest changes in water status and chlorophyll content of lettuce (*Lactuca Sativa L.*) and their relationship with overall visual quality. *J. Food Sci.* 73 (1): 176-185.
- ALLENDE, A.; AGUAYO, E.; ARTÉS, F. 2004a. Microbial and sensory quality of comercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *Int. J. Food Microbiol.* 91: 109-117.
- ALLENDE, A.; LUO, Y.; Mc EVOY, J.; ARTÉS, F.; WANG, C. 2004b. Microbial and quality changes in minimally proceessed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 33:51-59.
- ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN F.A.; GIL, M.I. 2006. Minimal processing for healthy tradicional foods. *Trends in Food Sci. Technol.* 17:513-519.
- ALPI, A.; TOGNONI, F. 1991. Cultivo en invernadero. Actual orientación científica y técnica. 3^{ra} ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. 347 p.
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total poliphenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chem.* 107:1173-1179.
- ALZAMORA, S.M.; CASTRO, M.A.; VIDALES, S.L.; NIETO, A.B.; SALVATORI, D. 2000. The role of tissue microstructure in the textural characteristics of

minimally processed fruits. Alzamora, S.M.; Tapia, M.S.; Lopez-Malo, A. eds. In: Minimally processed fruits and vegetables, fundamental aspects and applications. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, pp 153-171.

AN, D.S.; PARK, E.; LEE, D.S. 2009. Effect of hypobaric packaging on respiration and quality of strawberry and curled lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 52:78-83.

ANSORENA, M.R.; GOÑI, M.G.; AGÜERO, M.V.; ROURA, S.I.; DI SCALA, K.C. 2009. Application of the General Stability Index method to assess the quality of butter lettuce during postharvest storage using a multi-quality indices analysis. *J. Food Eng.* 92:317-323.

AOAC. 2005. Plants. Horwitz, W.; Latimer, G.W. Jr. eds. In: *Official Methods of Analysis*, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. pp. 376-384.

ARES, G.; LAREO, C.; LEMA, P. 2008a. Sensory shelf life of butterhead lettuce leaves in active and pasive modified atmosphere packages. *Int. J. Food Sci. Technol.* 43:1671-1677.

ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. 2008b. Sensory shelf life estimation of minimally processed lettuce considering two stages of consumers' decision-making process. *Appetite.* 50:529–535.

AUDISIO, M.; DANTE, D.; DE CICCIO, A.; SICILIANO, M. 1995. Il contenuto di vitamina C nei peperoni (*Capsicum annuum*) delle cultivar Rubra e Golden King in relazione al grado di maturazione e alle modalità di conservazione. *Riv. Soc. Ital. Sci. Alimentaz.* 24:543.

BARG, M.; AGÜERO, M.V.; YOMMI, A.; ROURA, S. 2009. Evolution of plant water status indices during butterhead lettuce growth and its impact on post-storage quality. *J. Sci. Food Agric.* 89:422-429.

- BARRIGA, M. I.; TRACHY, G.; WILLEMOT, C.; SIMARD, R. E. 1991. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmospheres. *J. Food Sci.* 56:1597–1599.
- BARRY-RYAN, C.; O'BEIRNE, D. 1999. Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing. *J. Food Sci.* 64:498-500.
- BEUCHAT, L.R. 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection.* 4: 413–423.
- BOLIN, H.R.; STAFFORD, A.E.; KING, A.D Jr.; HUXSOLL, C.C. 1977. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *J. Food Sci.* 42:1319-1321.
- BRECHT, J.K.; CHAU, K.V.; FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.A.R.; SILVA, F.M.; NUMES, M.C.N.; BENDER, R.J. 2003. Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. *Postharvest Biol. Technol.* 27:87-101.
- CALDWELL, C.R.; BRITZ, S. 2006. Effect of supplemental ultraviolet radiation on the carotenoid and chlorophyll composition of green house-grown leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars. *J. Food Compos. Anal.* 19:637-644.
- CASANO, L.M.; MARTÍN, M., ZAPATA, J.M.; SABATER, B. 1999. Leaf age – and paraquat concentration – dependent effects on the levels of enzymes protecting against photooxidative stress. *Plant Sci.* 149:13-22.
- CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSÓRIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann. Bot.* 89:907-916.
- CHEN, F.; ZHANG, L.; AN, H.; YANG H.; SUN, X.; LIU, H.; YAO, Y.; LI, L. 2009. The nanostructure of hemicellulose of crisp and soft Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* L.) cultivars at different of ripeness. *LWT-Food Sci. Technol.* 47:125-130.

- CHIESA, A. 2010. Factores precosecha y postcosecha que inciden en la calidad de la lechuga. *Horticultura Argentina*. 29:28-32.
- CHIKUSHI, J.; EGUCHI, H. 1989. Two dimensional analysis of relative growth in lettuce leaf. *Biotronics*. 18:37-44.
- CHISARI, M.; TODARO, A. 2010. Salinity effects on enzymatic browning and antioxidante capacity of fresh-cut baby Romaine lettuce (*Lactuca sativa L. cv. Duende*). *Food Chem*. 119:1502-1506.
- CIE. 1978. Recommendations on uniform colour spaces – colour difference equations, psychometric colour terms. Supplement N°. 2. CIE Publication N°. 15(E-1-3.1) 1971/(TC-1-3). Paris: CIE.
- CLARKSON, G.J.J.; O'BYRNE, E.; ROTHWELL, S.D.; TAYLOR, G. 2003. Identifying traits to improve postharvest porocessability in baby leaf salad. *Postharvest Biol. Technol*. 30:287-298.
- CONTE, A.; CONVERSA, G.; SCROCCO, C.; BRESCA, I.; LAVERSE, J.; ELIA, A.; DEL NOBILE, M.A. 2008. Influence of growing periods on the quality of baby spinach leaves at harvest and during storage as minimally processed produce. *Postharvest Biol. Technol*. 50:190-196.
- CORBO, M. R.; DEL NOBILE, M. A.; SINIGAGLIA, M. 2006. A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Microbiol*. 106(1): 69-73.
- DAISS, N.; LOBO, M.G.; GONZALEZ, M. 2008. Changes in Postharvest Quality of Swiss Chard Grown Using 3 Organic Preharvest Treatments. *J. Food Sci*. 73:S315-S320.

- DELAQUIS, P. J. ; STEWART, S. ; TOIVONEN, P. M. A. ; MOYLS, A. L. 1999. Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce. *Food Res. Int.* 32(1): 7-14.
- DEL NOBILE, M. A.; BAIANO, A.; BENEDETTO, A.; MASSIGNAN, L. 2006. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. *J. Food Eng.* 74(1): 60-69.
- DIALLO, A.T.; SAMB, P.I.; RAY-MACANLEY, H. 2001. Water status and stomal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. *Eur. J. Soil Biol.* 37:187-196.
- DI BENEDETTO, A. 2005. Manejo de cultivos hortícolas. Orientación Gráfica Editora S.R.L. Buenos Aires. Argentina. 373 p.
- DI BENEDETTO, A. 2008. Comunicación personal en el marco del curso “Ecofisiología de cultivos en sistemas de producción intensivos”. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. s.p.
- DUFAULT, R.J.; WARD, B.; HASSELL, R.L. 2009. Dynamic relationships between field temperatures and romaine lettuce yield and head quality. *Scientia Horticulturae.* 120:452-459.
- ENSMINGER, A.H.; ENSMINGER, M.E.; KONLANDE, J.E.; ROBSON, J.R.K. 1993. *Foods & nutrition encyclopedia.* 2nd ed. CRC Press. Baton Rouge, Fla. p. 1308.
- ESCALONA, V. H.; VERLINDEN, B.E.; GEYSEN, S.; NICOLAÏ, B.M. 2006. Changes in respiration of fresh-cut butterhead lettuce under controlled atmospheres using low and superatmospheric oxygen conditions with different carbon dioxide levels. *Postharvest Biol. Technol.* 39:48-55.
- ESPARZA RIVERA, J.R.; STONE, M.B.; STUSHNOFF, C.; PILON-SMITS, E.; KENDALL, P.A. 2006. Effects of ascorbic acid applied by two hydrocooling methods on physical and chemical properties of green leaf lettuce stored at 5 °C. *J. Food Sci.* 71(3):S270-S276.

- ESPÍ, E.; SALMERÓN, A.; FONTECHA, A.; GARCÍA, Y.; REAL, A.I. 2006. Plastic films for agricultural applications. *J. Plast. Film Sheet.* 22:85-102.
- FARBER, J. N.; HARRIS, L. J.; PARISH, M. E.; BEUCHAT, L. R.; SUSLOW, T. V.; GORNEY, J. R. 2003. Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce. *Compre. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2:142–160.
- FERRANTE, A.; VERNIERI, P.; SERRA, G.; TOGNONI, F. 2004. Changes in abscisic acid during leaf yellowing of cut stock flowers. *J. Plant Growth Regul.* 43: 127–134.
- FERRANTE, A.; MAGGIORE, T. 2007. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of Valeriana leafy vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 45:73–80.
- FERRATO, J.; MONDINO, M.C. 2008. Publicación cuatrimestral de la Facultad de Ciencias Agrarias UNR.[en línea] <www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/24/4AM24.htm>. [Consulta: 16 de mayo 2009].
- FISCHER-ARNDT, M.; NEUHOFF, D.; TAMM, L.; KÖPKE, U. 2010. Effects of weed management practices on enteric pathogen transfer into lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata). *Food Control.* 21:1004-1010.
- FITTER, A.H.; HAY, R.K.M. 2002. *Environmental Physiol. Plants.* Academic Press, California, USA. 367 p.
- FONSECA, S.C.; OLIVIERA, A.R.; BRECHT, J.K. 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *J. Food Eng.* 52:99-119.
- FONSECA, J. M. 2006. Postharvest Quality and Microbial Population of Head Lettuce as Affected by Moisture at Harvest. *J. Food Sci.* 71:M45-M49.

- FONTANETTI VERDIAL, M.; SANTOS LIMA, M.; MORGOR, A.; GOTO, R. 2001. Production of Iceberg lettuce using mulches. *Scientia Agricola*. 58(4):737-740. [en línea] <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v58n4/6292.pdf>>. [Consulta: 11 de marzo 2010].
- FRANCK, C.; LAMMERTYN, J.; TRI HO, Q.; VERBOVEN, P.; VERLINDEN, B.; NICOLAÏ, B.M. 2007. Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 43:1-13.
- FREZZA, D.; LEÓN, A.; CHIESA, A. 2007. Calidad de Apio (*Apium graveolens* var. Dulce) mínimamente procesado según sistema de producción y temperatura de almacenamiento. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. [en línea] <www.horticom.com/pd/imagenes/69/193/69193.pdf>. [Consulta: 9 de septiembre 2008].
- GALVIS-SÁNCHEZ, A. C.; FONSECA, S.C.; MORAIS, A.M.M.B.; MALCATA F. X. 2004. Effects of preharvest, harvest and postharvest factors on the quality of pear (cv. 'Rocha') stored under controlled atmosphere conditions. *J. Food Eng.* 64:161–172.
- GERGOFF, G.; CHAVES, A.; BARTOLI, C.G. 2010. Ethylene regulates ascorbic acid content during dark-induced leaf senescence. *Plant Sci.* 178: 207–212.
- GIANNAKOUROU, M.C.; TAOUKIS, P.S. 2003. Kinetics modeling of Vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chem.* 83: 33-41.
- GIL, M.I.; CONESA, M.A.; ARTÉS, F. 2002. Quality changes in fresh cut tomato as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 25:199-207.
- GONZALEZ AGUILAR, G.A.; RUIZ CRUZ, S.; CRUZ VALENZUELA, R.; RODRIGUEZ FELIX, A.; WANG, C.Y. 2004. Physiological and quality changes of fresh-cut pineapple treated with antibrowning agents. *Lebens.-Wiss. Technol.* 37: 369-376.

- GALVÁN, G.; RODRÍGUEZ, J., 1998. Cultivos de Hoja. Lechuga: generalidades y ecofisiología. Montevideo. Facultad de Agronomía. 26 p. [en línea] <http://www.fagro.edu.uy/~horticultura/CURSO%20HORTICULTURA/CULTIVOS_HOJA/Cultivos%20de%20Hoja%20Ecofisiolog%EDa.pdf> [Consulta: 22 de junio 2011].
- GUERRA, M.N.; CARROZZI, L.; GOÑI, M.G.; ROURA, S.I.; YOMMI, A. 2010. Quality characterization of celery (*Apium graveolens* L.) by zones of plant and two harvest dates. J. Food Sci. 75:S327-S332.
- HEIMLER, D.; VIGNOLINI, P.; DINI, M.; ROMANI, A. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. J. Agric. Food Chem. 53: 3053-3056.
- HODGES, D.M.; FORNEY, C.F. 2003. Postharvest ascorbate metabolism in two cultivars of spinach differing in their senescence rates. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 128:930-935.
- HODGES, D.M.; TOIVONEN, P.M.A. 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables affected by exposure to abiotic stress. Postharvest Biol. Technol. 48(2):155-162.
- INFOSTAT. 2004. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Ed. Brujas. Argentina.
- ICMSF. 1983. Métodos recomendados para el análisis microbiológico en alimentos. En: Microorganismos de los alimentos I. Técnicas de análisis microbiológicos, 2^{da} ed. Zaragoza, España.
- JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; VAN DER STEEN, C.; DEBEVERE, J. 2001. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. Int. J. Food Microbiol. 71:197-210.
- JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, J.; DEBEVERE, J. 2002. Predictive modeling for packaging design: equilibrium modified atmosphere packages of fresh-cut

vegetables subjected to a simulated distribution chain. *Int. J. Food Microbiol.* 73: 331-341.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHIERE, F.; RAGAERT, P.; VANNESTE, E.; DEBEVERE, J. 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *Int. J. Food Microbiol.* 83:263– 280.

JAMIE, P.; SALTVEIT, M.E. 2002. Postharvest changes in brócoli and lettuce during storage in argon, helium, and nitrogen atmospheres containing 2% oxygen. *Postharvest Biol. Technol.* 26:113-116.

JIN, P.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y.; ZHENG, Y. 2010. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry.* 124:262–270.

JINBO, Z.; CHANGCHUN, S.; WEYNAN, Y. 2007. Effects of cultivation on soil microbiological properties in a freshwater marsh soil in Northeast China. *Soil Till. Res.* 93:231-235.

JONES, H.G.; TARDIEU F. 1998. Modelling water relations of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae.* 74:21–6.

KADER, A.A. 1992. Postharvest technology of horticultural crops. Division of Agriculture and Natural Resource. University of California, Davis, C.A. 297 p.

KADER, A.A. 2002. Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products. In: *Fresh-cut fruits and vegetables.* Ed.O. Lamikanra. CRC Press, New York, USA. pp 11-20.

KAYS, S.J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.* 15(3):233-247.

- KIM, H.; RYU, J.; BEUCHAT, L. 2006. Survival of *Enterobacter sakazakii* on fresh produce as affected by temperature, and effectiveness of sanitizers for its elimination. *Int. J. Food Microbiol.* 111:134-143.
- KRUG, H. 1997. Environmental Influences on Development, Growth and Yield. Wien, H.C. ed. In: *The Physiology of Vegetables Crops*. CAB International. New York. pp. 101- 180.
- KONSTANTOPOULOU, E.; KAPOTIS, G.; SALACHAS, G.; PETROPOULOS, S.A.; IOANNIS, C.; KARAPANOS, I.C.; PASSAM, H.C. 2010. Nutritional quality of greenhouse lettuce at harvest and after storage in relation to N application and cultivation season. *Scientia Horticulturae*. 125:93.e1–93.e5.
- KUEHL, R. 2001. *Diseño de Experimentos 2^{da} ed.* Thompson Learning Intl. 666 p.
- LAURIN, É.; NUNES, M.C.N.; ÉMOND, J.P.; BRECHT, J.K. 2006. Residual effect of low-pressure stress during simulated air transport on Beit Alpha-type cucumbers: Stomata behavior. *Postharvest Biol. Technol.* 41:121-127.
- LAWLOR, D.W. 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Ann. Bot.* 89:871-885.
- LEE, S.K.; KADER, A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20:207:220.
- LIAKATAS, A.; CLARK, J.A.; MONTEITH, J.L. 1986. Measurements of the heat balance under plastic mulches. I: Radiation balance and soil heat flux. *Agric. For. Meteorol.* 36:227–239.
- LI, F.; WANG, J.; XU, J.; XU, H. 2004. Productivity and soil response to plastic film mulching durations for spring wheat on entisols in the semiarid Loess Plateau of China. *Soil Till. Res.* 78:9-20.
- LI, M.; MA, F.; GUO, C.; LIU, J. 2010. Ascorbic acid formation and profiling of genes expressed in its synthesis and recycling in apple leaves of different ages. *Plant Physiol. Biochem.* 48:216-224.

- LIU, X.; ARDO, S.; BUNNING, A.; PARRY, J.; ZHOU, K.; STUSHNOFF, C.; STONIKER, F.; YU, F.; KENDALL, P. 2007. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa L.*) grown in Colorado. LWT. 40: 552-557.
- LÓPEZ-GALVEZ, G.; SALTVEIT, M.E.; CANTWELL, M. 1996. Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuce. Postharvest Biol. Technol. 9, 223-233.
- MAGED, A. E. 2006. Effect of Mulch Types on Soil Environmental Conditions and their Effect on the Growth and Yield of Cucumber Plants. J. Appl. Sci. Res. 2(2): 67-73.
- MALTINI, E.; TORREGGIANI, D.; VENIR, E.; BERTOLO, G. 2003. Water activity and the preservation of plant foods. Food Chem. 82:79-86.
- MARTIN-DIANA, A.B.; RICO, D.; BARRY-RYAN, C.; MULCAHY, J.; FRIAS, J.M.; HENEHAN, G.T.M. 2005. Effect of heat-shock on browning-related enzymes in minimally processed Iceberg lettuce and crude extracts. Biosci. Biotechnol. Biochem. 69: 213–219.
- MARTÍNEZ, I.; ARES, G.; LEMA, P. 2008. Influence of cut and packaging film on sensory quality of fresh-cut butterhead lettuce (*Lactuca sativa L.*, cv. Wang). J. Food Qual. 31:48-66.
- MARTÍNEZ, J.A.; ARTÉS, F. 1999. Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested iceberg lettuce. Food Res. Int. 32:621-627.
- MARTINEZ, J.P.; SILVA, H.; LENDENT, J.F.; PINTO, M. 2007. Effect of drought on the osmótica adjustment, cell wall elasticity and cell volumen of six cultivars of common beans (*phase-olus vulgaris L.*). Eur. J. Agron. 26:30-38.

- MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TUDELA, J.A.; LUNA, C.; ALLENDE, A.; GIL, M. 2010. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 59:34–42.
- McKELLAR, R.C.; ODUMERU, J.; ZHOU, T.; HARRISON, A.; MERCER, D.G.; YOUNG, J.C.; LU, X.; BOULTER, J.; PIYASENA, P.; KARR, S. 2004. Influence of a commercial warm chlorinated water treatment and packaging on the shelf-life of ready-to-use lettuce. *Food Res. Int.* 37:343-354.
- MCMEEKIN, T.A.; ROSS, T. 1996. Shelf life prediction: status and future possibilities. *Int. J. Food Microbiol.* 33:65-83.
- MELIS, A. 1999. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the ratio of photodamage in vivo? *Trends Plant Sci.* 4(4):130-135.
- MOLEYAR, V.; NARASIMHAM, P. 1994. Modified atmosphere packaging of vegetables: an appraisal. *J. Food Sci. Technol.* 31:267-278.
- MONTGOMERY, D.C.; PECK, E.A.; VINING, G.G. 2002. Variables indicadoras. Callejas, J.E. ed. En: *Introducción al análisis de regresión lineal*. Continental. México, D.F. 588 p.
- MOREIRA, M. R.; ROURA, S.; DEL VALLE, C. 2003. Quality of Swiss chard produced by conventional and organic methods. *Lebens.-Wiss. Technol.*, 36: 135-141.
- MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; DEL VALLE, C.E.; ROURA, S.I. 2005. Ascorbic Acid Retention, Microbial Growth, and Sensory Acceptability of Lettuce Leaves Subjected to Mild Heat Shocks. *J. Food Sci.* 71(2):S188-S192.
- MOREIRA, M. R.; PONCE, A.; DEL VALLE, C.; ANSORENA, M. R.; ROURA, S. 2006. Effects of abusive temperatures on the postharvest quality of lettuce leaves: ascorbic acid loss and microbial growth. *J. Appl. Hort.* 8(2):109-113.

- MORENO, M.M.; MORENO, A. 2008. Effect of different biodegradable and polyethylene mulches on soil properties and production in a tomato crop. *Scientia Horticulturae*. 116:256-263.
- MOSSEL, D.; MORENO GARCÍA, B. eds. 1985. *Microbiología de alimentos*. Acribia S. A. Zaragoza, España. pp. 214–272.
- MUNGUÍA, J. A.; ZERMEÑO, R.; QUEZADA, M.; DE LA ROSA, L.; IBARRA, A.; TORRES, B. 2004. Relación entre los componentes del balance de energía y la resistencia estomacal en el cultivo de melón bajo acolchado plástico: (con 2 figuras y 1 cuadro). *Phyton* (B. Aires). 73181-192. [en línea] <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-6572004000100022&lng=es&nrm=iso>. [Consulta: 11 de diciembre 2009].
- NICOLLE, C.; CARDINAULT, N.; GUEUX, E.; JAFFRELO, E.R.; MAZUR, A.; AMOUROUX, P.; RÉMÉSY, C. 2004. Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clin. Nutri.* 23:605-614.
- NUNES, M.C.N. 2008. Impact of environmental conditions on fruit and vegetable quality. *Stewart Postharvest Rev.* 4:1-14.
- NUNES, M.C.N.; EMOND, J.P.; RAUTH, M.; DEA, S.; CHAU, K.V. 2009. Environmental conditions encountered during typical consumer retail display affect fruit and vegetable quality and waste. *Postharvest Biol. Technol.* 51:232-241.
- OH, M.; CAREY, E.E.; RAJASHEKAR, C.B. 2009. Environmental stress induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiol. Biochem.* 47:578-583.
- OHE, M.; RAPOLU, M.; MIEDA, T.; MIYAGAWA, Y.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K.; SHIGEOKA, S. 2005. Decline on leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Sci.* 168:1487-1493.

- OMS-OLIU, G.; RAYBAUDI-MANSILIA MARTINEZ, R.M.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN BELLOSO, O. 2008. Effect of superatmospheric and low oxygen modified atmospheres on shelf-life extensión of fresh-cut melon. *Food Control*. 19:191-199.
- ÖZCAN, M.; KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit jueces. *Food Chem*. 88:591-597.
- PANDLEY, D.M.; KIM, K.H.; YEO, U.D. 2003. Dynamic changes of photosynthetic pigments in soybean callus under high irradiance. *Photosynthetica*. 41(2):311-314.
- PATAKAS, A. 2000. Changes in the solutes contributing to osmotic potential during leaf ontogeny in grapevine leaves. *Am. J. Enol*. 51:223-226.
- PAUL, V.; SRIVASTAVA, G.C. 2006. Role of surface morphology in determining the ripening behaviour of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits. *Scientia Horticulturae*. 110:84-92.
- PHILLIPS, C.A. 1996. Review: modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety produce. *Int. J. Food Sci. Technol*. 31:463-479.
- PIROVANI, M.E.; PIAGENTINI, A.M.; GÜEMES, D.R.; DI PENTIMA J.H. 1998. Quality of minimally processed lettuce as influenced by packaging and chemical treatment. *J. Food Qual*. 22: 475-484.
- PONCE, A. G.; ROURA, S. I.; DEL VALLE, C. E.; FRITZ, R. 2002. Characterization of native microbial population of Swiss Chard (*Beta vulgaris*, type cicla). *Food Sci. Technol*. 35: 331–337.
- PONCE, A.G.; ROURA, S.I.; DEL VALLE, C.E.; FRITZ, R. 2003. Characterization of native microbial populations on Swiss chard (*Beta vulgaris* type cicla) cultivates by organic methods. *Lebensm.-Wiss U. Technol*. 36:183-188.

- PONCE, A.; AGÜERO, M.V.; ROURA, S.I.; DEL VALLE, C.E.; MOREIRA, M.R. 2008. Dynamics of Indigenous microbial population of Butterhead lettuce grown in mulch and on bare soil. *J. Food Sci.* 73(6):M257-M263.
- POULSEN, N.; JOHANSEN, J.N.; SORENSEN, J.N. 1995. Influence of growth condition on the value of crisphead lettuce, quality changes during storage. *Plant Foods Human Nutri.* 47: 157-162.
- RAGAERT, P.; VERBEKE, W.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. 2004. Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. *Food Qual. Preference.* 15:259-270.
- REDIERS, H.; CLAES, M.; PEETERS L.; WILLEMS, K. 2009. Evaluation of the cold chain of fresh-cut endive from farmer to plate. *Postharvest Biol. Technol.* 51:257-262.
- RICO, D.; MARTIN-DIANA, A.B.; BARAT, J.M.; BARRY-RYAN, C. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18:373-386.
- RODRIGUES, C.M.A.; DELLA LUCIA, C.M.; AZEREDO, R.M.C.; COTA, A.M.; SANTANA, A.M.C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. 2010. Control of vitamin C losses in vegetables prepared at a food service. *Food Control.* 21:264-271.
- ROURA, S.; DAVIDOVCH, L.; DEL VALLE, C. 2000. Postharvest changes in fresh Swiss chard under different storage conditions. *J. Food Qual.* 23:143–147.
- ROURA, S.I.; MOREIRA, M.R.; CRAPISTE, G.; DEL VALLE, C.E. 2001. Biochemical characterization of two pepper varieties in green and red maturation stages. *Ital. J. Food Sci.* 4: 391–397.
- ROURA, S. I.; MOREIRA, M. R.; PONCE, A.; DEL VALLE, C. 2003. Dip treatments for fresh Romaine lettuce. *Ital. J. Food Sci.* 3: 405-415.

- SALVEIT, M.E. 2003. Is it posible to find an optimal controlled atmosphere? Postharvest Biol. Technol. 27:3-13.
- SALVEIT, M.E. 2004. Effect of 1-methylcyclopropene on phenylpropanoid metabolism, the accumulation of phenolic compounds, and browning of whole and fresh-cut 'Iceberg' lettuce. Postharvest. Biol. Technol. 34:75-80.
- SAMS, CARL E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. Postharvest Biol. Technol. 15:249-254.
- SAS Inc. 2002. SAS software, Version 9.0 of the SAS System for Windows. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SINGH, V.; PALLAGHY, C.K.; SINGH, D. 2006. Phosphorouos nutrition and tolerance of cotton to water stress II. Water relations, free and bound water and leaf expansion rate. Fields Crops Res. 96:199-206.
- SIOMOS, A.S.; PAPADOPOULOU, P.P.; DOGRAS, C.C.; VASILIADIS, E.; DOSAS, A.; GEORGIU, N. 2002. Lettuce Composition as Affected by Genotype and Leaf Position. Acta Hort. 579: 635-639.
- STAVISKY, A. 2010. Situación actual de la plasticultura en Argentina. [en línea] <http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/plasticultura_en_argentina.htm> [consulta: 11 octubre 2010].
- STEEL R.D.G.; TORRIE, J.H. 1992. Bioestadística: principios y procedimientos. McGraw-Hill. México D.F.México. 622 p.
- TANO, K.; OULÉ, M.K.; DOYON, G.; LFNCKI, R.W.; ARUL, J. 2007. Comparative evaluation of the effect of storage temperature fluctuation on modified atmosphere packages of selected fruit and vegetables. Postharvest Biol. Technol. 46:212-221.

- TOLEDO, M.E.A.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y.; AYAKI, M. 2003. L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in Light and dark. *Postharvest Biol. Technol.* 28:47-57.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.I.; CASTAÑER, M.; ARTES, F.; SALVEIT, M. 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 45:583-589.
- VEGA-GÁLVEZ, A.; LEMUS-MONDACA, R.; BILBAO-SÁINZ, C.; FITO, P.; ANDRÉS, A. 2008. Effect of air drying temperature on the quality of rehydrated dried red bell pepper (var. Lamuyo). *J. Food Eng.* 85:42-50.
- VIGNONI, L.A.; CÁSARI, R.M.; FORTE, M.; MIRÁBILE, M.L. 2006. Determinación del Índice de Color en Ajo Picado. *Información Tecnológica.* 17: 63-67. [en línea] <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642006000600011&lng=es&nrm=iso>. [Consulta: 10 de abril de 2008].
- VIÑA, S.Z.; CHAVEZ, A.R. 2003. Texture changes in fresh cut celery during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.* 83:1308–14.
- WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biol. Technol.* 9:115-125.
- WATADA, A.E. 1997. Quality Maintenance of Fresh-cut Fruits and Vegetables. *Foods Biotechnol.* 6:229-233.
- WESTLAND, S. 2001. Qué es el espacio de color CIE L*a*b*. [en línea] http://www.gusgsm.com/espacio_color_cie_lab. [Consulta: 11 de agosto de 2010].
- WIEN, H. C. 1997. Lettuce. Wien, H.C. ed. In: *The Physiology of Vegetables Crops*. CAB International. New York. pp 479- 509.

- WILEY, C. R. 1997. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. En: Mossel, D. A y Moreno García, B. Eds. Microbiología de alimentos. Acribia S.A. Zaragoza. España. 376 p.
- WIEßNER, S.; THIEL, B.; KRÄMER, J.; KÖPKE, U. 2009. Hygienic quality of head lettuce: Effects of organic and mineral fertilizers. *Food Control*. 20:881-886.
- WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. 2006. Organic food. *J. Food Sci.* 71(9): 117-124.
- WOJCIECHOWSKA, R.; SIWEK, P.; LIBIK, A. 2007. Effect of mulching with various films on the yield quality of butterhead lettuce and celery stalks with special reference to nitrate metabolism. *Folia Horticulturae*. 19(1):37-44. [en línea] :<www.ptno.ogr.ar.krakow.pl/Wydawn/FoliaHorticulturae/Spisy/FH2007/PDF19012007/fh1901p04.pdf>. [Consulta: 20 de marzo de 2010].
- ZAGORY, D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biol. Technol.* 15:313-321.
- ZANONI, B.; LAVELLI, V.; AMBROSOLI, R.; GARAVAGLIA, L.; MINATI, J.; PAGLIARINI, E. 2007. A model to predict shelf-life in air and darkness of cut, ready-to-use, fresh carrots under both isothermal and non-isothermal conditions. *J. Food Eng.* 79:586-591.
- ZHAO, X.; CHAMBERS, E.; MATTA, Z.; LUGHIN, T. M.; CAREY, E. F. 2007. Consumer sensory analysis of organically and conventionally grown vegetables. *J. Food Sci.* 72(2): 87-91.
- ZHOU, T.; HARRISON, A.D.; McKELLAR, R.; YOUNG, J.C.; ODUMERU, J.; PIYASENA, P.; LU, X.; MERCER, D.G.; KARR, S. 2004. Determination of acceptability and shelf life of ready-to-use lettuce by digital image analysis. *Food Res. Int.* 37:875–881.
- ZWIETERING, M. H.; ROMBOUTS, F. M.; VAN 'T RIET, K. 1993. Some aspects of modelling microbial quality of food. *Food Control*. 4: 89-96.

ANEXOS

A. IMAGENES

Figura I: Lechuga manteca proveniente de invernadero con cobertura plástica del suelo (I.mulch)



Figura II: Lechuga manteca proveniente de invernadero tradicional (I.trad)



Figura III: Lechuga manteca proveniente de campo (campo).



Figura IV: Escala de pardeamiento enzimático en la zona de corte utilizada por los jueces para el análisis sensorial.

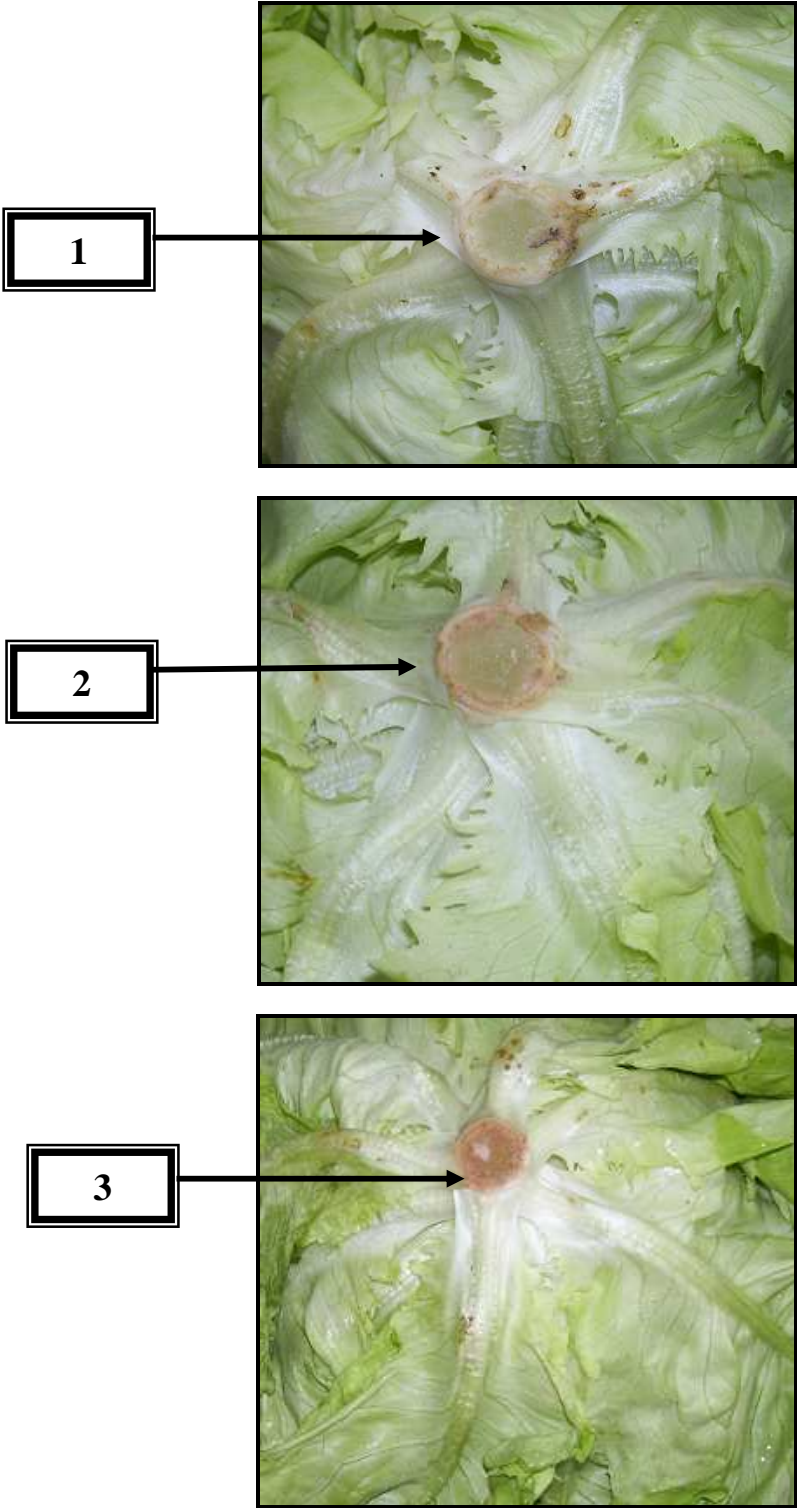


Figura IV (continuación): Escala de pardeamiento enzimático en la zona de corte utilizada por los jueces para el análisis sensorial.

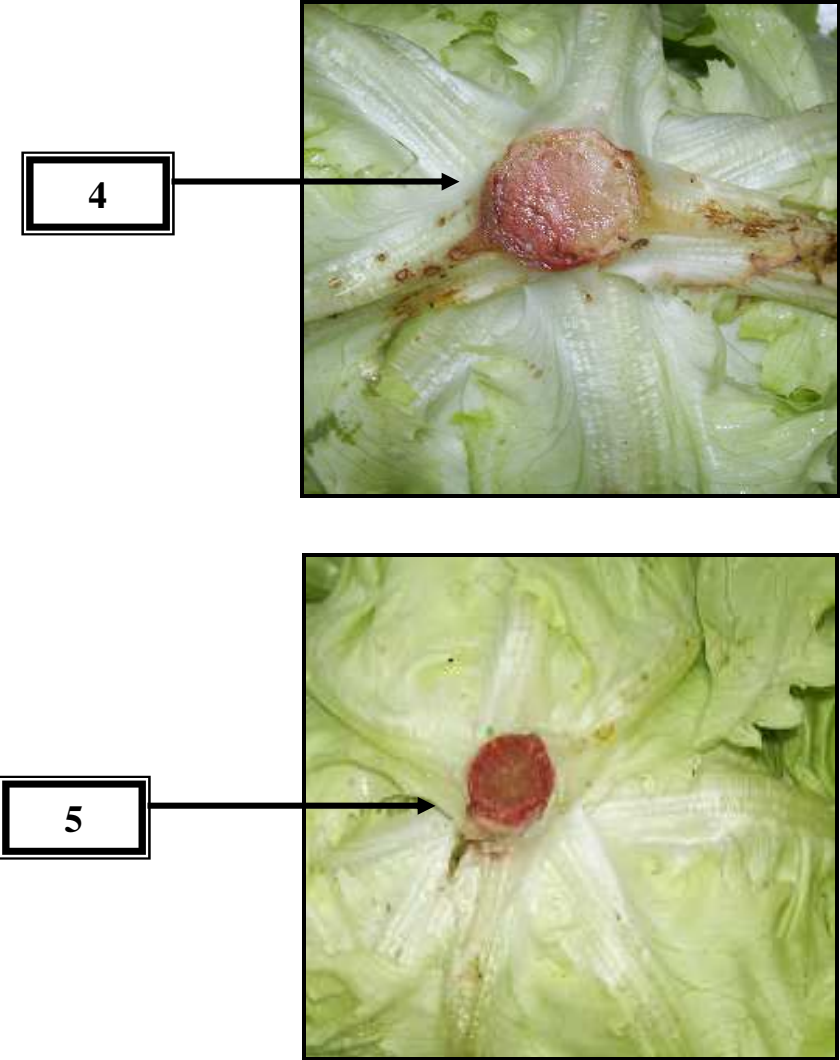


Figura V: Ejemplos de pardeamiento enzimático en hojas de lechuga manteca.



Figura VI: Color, brillo y textura de las hojas de lechuga manteca, según el método de cultivo.



Figura VII: Lechuga manteca en bolsa de polietileno (control) al momento del envasado.



Figura VIII: Lechuga manteca en bolsa de material barrera PD960 (atmósfera modificada pasiva y/o activa) al momento del envasado.



Figura IX: Lechuga manteca de invernadero mulch almacenada en atmósfera modificada pasiva.



Figura X: Lechuga manteca de invernadero tradicional almacenada en atmósfera modificada pasiva.



Figura XI: Lechuga manteca proveniente de campo almacenada en atmósfera modificada pasiva.



**B. INFORMACIÓN
TÉCNICA**

Figura XII: Envasadora de vacío utilizada para el sellado de las bolsas en los envases con atmósfera modificada pasiva y control; y para el intercambio de gases en los envases con atmósfera modificada activa.



Figura XIII: Ficha técnica del material barrera utilizado para el envasado de lechuga manteca en atmósfera modificada.

CRYOVAC® PD-960 Film

CRYOVAC® PD-960 Film

A permeable rollstock film for the bulk packaging of processed fresh produce for foodservice.

PD-960 Film is a unique formulation developed by Cryovac scientists specifically for the bulk packaging of processed fresh produce. This multilayer polyolefin material in 1.25 gauge is designed for use on vertical form-fill-seal equipment.

PD-960 Film was created with the specific demands of fresh produce in mind. It is the result of scientific studies of the respiration rates of fresh vegetables, and the degree of permeability required for the optimum packaging film. By utilizing advanced, multilayer coextrusion technology combined with food science technology, Cryovac was able to design this advanced film for the foodservice industry.

The gas transmission rate of PD-960 Film is compatible with the natural respiration rate of processed vegetables. The film's scientifically controlled permeability provides an appropriate balance of oxygen and carbon dioxide for maintenance of fresh quality. PD-960 Film minimizes the development of off-flavors and aromas, provided that proper temperatures (35°-38°F) are maintained.

Although this 1.25-mil film is only half as thick as many standard poly films, it is every bit as strong. Its multilayer toughness allows the package to withstand handling abuses in distribution, with fewer leakers. PD-960 Film also offers superior seal strength.

This new packaging film for foodservice bulk produce also provides excellent clarity; high gloss and sheen enhance the full color and appeal of the product. Packages made with PD-960 are virtually leakproof, providing greater sanitation during shipment and helping to prevent contamination of the product.

Film Highlights

Type of Material.
Multilayered polyolefin.

Appearance.
Excellent clarity and superior gloss.

Toughness.
Abuse resistant with superior seal strength.

Forms Available.
Singlewound (SW) in widths to 65"; centerfold (CF) in widths to 58".

Transmission Rates.
Product specific O₂ and CO₂.


Figura XIII (continuación): Ficha técnica del material barrera utilizado para el envasado de lechuga manteca en atmósfera modificada.

| PROPERTIES | |
|--|----------------|
| | Typical Values |
| Gauge | 125 |
| Minimum Use Temperature | 0°F |
| Maximum Storage Temperature (two years maximum) | 90°F |
| Density @ 73°F. (g/cc) | 0.92 |
| Clarity (%) | 75 |
| Haze (%) | 6.5 |
| Gloss (%) | 84 |
| Oxygen Transmission Rate (cc/m ² 24 hrs. (73°F., 1 atm)) | 1,000-8,000 |
| Carbon Dioxide Transmission Rate (cc/m ² 24 hrs. (73°F., 1 atm)) | 10,000-22,000 |
| Water Vapor Transmission Rate (grams/100 sq. in./24 hrs. (73°F., 50% RH)) | 0.90-1.10 |
| Ball Burst Impact Strength (cm/kg) | 26 |
| Coefficient of Friction (film-to-film; static) | 0.25 |
| Tensile Strength (psi) | 12,000 |
| Elongation at Break (%) | 115 |
| Modulus of Elasticity (psi) | 13,000 |
| Tear Propagation (g/min) | 30 |

*See These are typical values for Cryovac Film. They are not intended to state or imply specifications.

This information represents our best judgment based on the work done, but the Company assumes no liability whatsoever in connection with the use of information or findings contained herein.

PD-960 complies with the requirements of the Federal Food, Drug and Cosmetic Act, as amended, for the packaging of all foods, with the exception of high alcohols, at temperatures of 100°C and below.



CRYOVAC
Sealed Air Corporation

Cryovac
P.O. Box 464
Duncan, SC 29334-0464 USA
Telephone: (864) 433-2000

CRYOVAC® PD-960 Film